

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 698 102 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Patenterteilung:
01.03.2006 Patentblatt 2006/09

(51) Int Cl.:
C12N 15/53 ^(2006.01) **C12N 9/04** ^(2006.01)
C12Q 1/60 ^(2006.01)

(21) Anmeldenummer: **94915569.1**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP1994/001394

(22) Anmeldetag: **02.05.1994**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 1994/025603 (10.11.1994 Gazette 1994/25)

(54) **CHOLESTERINOXIDASE AUS BREVIBACTERIUM STEROLICUM**

CHOLESTEROL-OXIDASE FROM BREVIBACTERIUM STEROLICUM

CHOLESTEROL-OXYDASE DU BREVIBACTERIUM STEROLICUM

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL PT SE

(56) Entgegenhaltungen:
EP-A- 0 452 112 EP-A- 0 560 983

(30) Priorität: **05.05.1993 DE 4314793**
09.12.1993 DE 4342012

- GENE. Bd. 103 , 1991 , AMSTERDAM NL Seiten 93 - 96 T. OHTA ET AL 'Sequence of gene choB encoding cholesterol oxidase of Brevibacterium sterolicum: comparison with choA of Streptomyces sp. SA-COO' in der Anmeldung erwähnt
- BIOSCIENCE, BIOTECHNOLOGY, AND BIOCHEMISTRY Bd. 56, Nr. 11 , November 1992 Seiten 1786 - 1791 T. OHTA ET AL 'Hyperexpression and analysis of choB encoding cholesterol oxidase of Brevibacterium sterolicum in Escherichia coli and Streptomyces lividans' in der Anmeldung erwähnt

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
28.02.1996 Patentblatt 1996/09

(73) Patentinhaber: **Roche Diagnostics GmbH**
68305 Mannheim (DE)

(72) Erfinder: **JARSCH, Michael**
D-83670 Bad Heilbrunn (DE)

EP 0 698 102 B1

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*, ein Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*, eine für dieses Verfahren geeignete DNA-Sequenz, welche eine zytoplasmatische Expression der rekombinanten Cholesterinoxidase im Wirtsbakterium bewirkt, sowie die so erhältliche rekombinante Cholesterinoxidase.

[0002] Für die enzymatische Bestimmung von Cholesterin ist die Cholesterinoxidase von großer Bedeutung. Sie katalysiert die Oxidation von Cholesterin zu Cholesten-3-on und H_2O_2 . Cholesterinoxidase aus verschiedenen Organismen wie *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Arthrobacter* und *Brevibacterium* sind bereits beschrieben worden (T. Uwajima et al., Agr. Biol. Chem. 37 (1973), 2345 - 2350). Alle diese bekannten Cholesterinoxidasen sind sezernierte Proteine. Das Bodenbakterium *Brevibacterium sterolicum* KY 3643 (ATCC 21387) zeigt eine besonders hohe Aktivität der Cholesterinoxidase. Aus diesem Bakterium sind drei Isoenzyme der Cholesterinoxidase bekannt, die sich in ihrem isoelektrischen Punkt, der Substratspezifität gegenüber verschiedenen Steroiden, der Affinität gegenüber Cholesterin im pH-Optimum und der DNA bzw. Aminosäuresequenz unterscheiden (EP-A 0 452 112 und EP-A 560 983). Die Cholesterinoxidase I aus *Brevibacterium sterolicum* zeigt eine geringe Affinität zu Cholesterin (K_M $1,1 \times 10^{-3}$ mol/l) und ist aus *Brevibacterium sterolicum* nur in geringer Ausbeute erhältlich. Die Expression einer kompletten für die Cholesterinoxidase I kodierenden DNA in *E. coli* wurde bereits versucht, ist jedoch bislang nicht gelungen (K. Fujishiro et al., Biochem. Biophys. Res. Com. 172 (1990), 721 - 727, T. Ohta et al., Gene 103 (1991), 93 - 96). Auch die Expression spezieller Deletionsmutanten der für die Cholesterinoxidase I kodierenden DNA, welche mit Teilen des lac z Gens fusioniert wurden, führte zu keiner befriedigenden Expression in *E. coli* (T. Ohta et al., Biosci. Biotech. Biochem. 56 (1992), 1786 - 1791). In der EP-A 0 452 112 wird die Klonierung und Expression von weiteren Cholesterinoxidasen aus *Brevibacterium sterolicum* beschrieben. Die Expression dieser DNAs führt jedoch ebenfalls nicht zu einer ausreichenden Menge an aktiver Cholesterinoxidase.

[0003] Aufgabe der Erfindung war es, eine Cholesterinoxidase mit hoher Affinität zu Cholesterin in großen Mengen und in aktiver Form zur Verfügung zu stellen.

[0004] Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Cholesterinoxidase, welche die in SEQ ID NO 2 gezeigte Aminosäuresequenz aufweist. Diese Cholesterinoxidase ist aus *Brevibacterium sterolicum* erhältlich oder auch rekombinant herstellbar.

[0005] Es hat sich überraschenderweise gezeigt, daß eine derartige Cholesterinoxidase rekombinant in großer Menge und in aktiver Form hergestellt werden kann. Diese Cholesterinoxidase weist ein Molekulargewicht von 60 kD, einen isoelektrischen Punkt von ca. 5,5 (jeweils gemessen im Phast-System, Pharmacia-LKB) sowie einen K_M -Wert für Cholesterin von 1×10^{-4} mol/l (in 0,5 mol/l Kaliumphosphatpuffer pH 7,5 bei 25°C) auf und ist in einem pH-Bereich von 5,5 bis 8,0 wirksam.

[0006] Es hat sich gezeigt, daß diese Cholesterinoxidase in großer Menge in aktiver Form erhalten werden kann, wenn für eine heterologe Expression eine DNA verwendet wird, welche für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodiert mit der in SEQ ID NO 1 gezeigten DNA-Sequenz oder der dazu komplementären DNA-Sequenz.

[0007] Vorzugsweise wird eine DNA verwendet, welche die in SEQ ID NO 1 gezeigte Sequenz aufweist. In dem Fachmann geläufiger Weise können jedoch degenerierte Codons durch andere Codons, welche für die gleiche Aminosäure kodieren, ersetzt werden. Zusätzlich soll die verwendete DNA eine der in SEQ ID NO 3, 4 und/oder 5 gezeigten DNA-Sequenzen aufweisen und für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodieren. Unter einem Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität ist ein solches Peptid zu verstehen, welches die Oxidation von Cholesterin (5-Cholesten-3- β -ol) zu 4-Cholesten-3-on und H_2O_2 katalysiert.

[0008] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher eine DNA, welche für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodiert mit der in SEQ ID NO 1 gezeigten DNA-Sequenz oder der dazu komplementären DNA-Sequenz.

[0009] Mit einer solchen DNA kann eine mindestens 10fach höhere Aktivität der rekombinant hergestellten Cholesterinoxidase im Rohextrakt erhalten werden als mit den bislang beschriebenen Verfahren und Cholesterinoxidasen.

[0010] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase durch Transformation einer geeigneten Wirtszelle mit einer erfindungsgemäßen DNA, welche in einem geeigneten Expressionssystem vorliegt, Kultivierung der transformierten Wirtszellen und Isolierung der gebildeten Cholesterinoxidase aus dem Zytoplasma der transformierten Zellen.

[0011] Mit diesem Verfahren ist es überraschenderweise möglich, eine rekombinante Cholesterinoxidase in großer Menge und aktiver Form aus dem Zytoplasma der transformierten Wirtszelle zu erhalten. Dabei kann die verwendete DNA am 5'-Ende eine zusätzliche Nukleotidsequenz enthalten, die ein Translations-Startcodon, jedoch kein Stopcodon aufweist, wobei diese zusätzliche Nukleotidsequenz nicht zu einer Leserasterverschiebung führt und keine für die Sekretion des gebildeten rekombinanten Enzyms funktionell aktive Signalsequenz darstellt. Die Länge dieser Nukleotidsequenz beträgt etwa 3 bis 90 Basenpaare.

[0012] Vorzugsweise weist die zusätzliche Nukleotidsequenz eine der in den Sequenzprotokollen 6, 8, 10, 12, 14 und 16 gezeigten Sequenzen anstelle der nativen Signalsequenz auf.

[0013] Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase, wobei eine erfindungsgemäße DNA verwendet wird, welche am 5'-Ende eine der in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 oder 16 gezeigten Sequenzen aufweist.

[0014] Die Transformation der für die rekombinante Herstellung verwendeten Wirtszellen erfolgt nach bekannten Verfahren (siehe z.B. Sambrook, Fritsch und Maniatis, "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989). Die transformierten Wirtszellen werden dann unter Bedingungen kultiviert, die eine Expression des Cholesterinoxidase-Gens erlauben. Je nach dem verwendeten Expressionsvektor ist hierfür in bekannter Weise gegebenenfalls die Zugabe eines Induktors (z.B. Lactose oder Isopropyl- β -D-thiogalactopyranosid (IPTG)) zum Kulturmedium, eine Temperaturerhöhung oder eine limitierte Glucosezufuhr zweckmäßig. Die Isolierung der rekombinanten Cholesterinoxidase aus dem Zytoplasma der transformierten Zellen erfolgt dann nach bekannten Verfahren.

[0015] Mit diesem Verfahren ist es möglich, die erfindungsgemäße Cholesterinoxidase als rekombinantes Enzym in einer Ausbeute von 8 - 20 U/ml zu erhalten. Die Expression des vollständigen Cholesterinoxidase-Gens, welches die Signalsequenz enthält, ergibt dagegen lediglich eine Ausbeute von unter 0,1 U/ml.

[0016] Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist eine erfindungsgemäße, für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodierende DNA, welche am 5'-Ende eine der in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 und 16 gezeigten Sequenzen aufweist. Besonders bevorzugt sind die in den Sequenzprotokollen 18, 20, 22, 24, 26 und 29 gezeigten Sequenzen. Vorzugsweise liegen diese erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen in einem Expressionsvektor kloniert vor. Mit Hilfe dieser DNA kann die erfindungsgemäße Cholesterinoxidase in beliebigen Mengen in den für die rekombinante Herstellung von Proteinen üblicherweise verwendeten Bakterien gewonnen werden. Vorzugsweise erfolgt die Expression in *E. coli*.

[0017] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher eine rekombinante Cholesterinoxidase, welche von einer erfindungsgemäßen DNA kodiert wird und am N-terminalen Ende eine der in SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 oder 17 gezeigten Aminosäuresequenzen aufweist.

[0018] Diese rekombinante Cholesterinoxidase ist für einen enzymatischen Test zur Bestimmung von Cholesterin ebenso geeignet wie die übrigen aus dem Stand der Technik bekannten Cholesterinoxidasen. Falls erforderlich können in dem Fachmann geläufiger Weise durch in-vitro-Mutagenese zwischen diesen N-terminalen Sequenzen und der Aminosäuresequenz der reifen Cholesterin-oxidase Erkennungssequenzen für spezifische Proteasen wie z.B. der IgA-Protease, der Enterokinase oder des Faktors Xa integriert werden, so daß auch nach der zytoplasmatischen Expression der um diese N-terminalen Sequenzen verlängerten Cholesterinoxidase eine Abspaltung solcher anfusionierter N-terminaler Sequenzen möglich ist.

[0019] Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist eine rekombinante Cholesterinoxidase, welche die in SEQ ID NO 21, 23, 25, 27 oder 29 gezeigte Aminosäuresequenz aufweist, sowie die Verwendung einer solchen rekombinanten Cholesterinoxidase in einem enzymatischen Test zum Nachweis von Cholesterin. Dabei wird vorzugsweise das in der Cholesterinoxidasereaktion gebildete H_2O_2 in einer nachgeschalteten Indikatorreaktion als Maß für das in der Probe vorhandene Cholesterin bestimmt.

[0020] Die in den Beispielen genannten Plasmide pUC-Chol-B2-BB (DSM 8274), pmgl-SphI (DSM 8272) und pfl-20AT1-SD (DSM 8273) wurden am 05.05.1993 bei der Deutschen Sammlung für Zellkulturen und Mikroorganismen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D - 3300 Braunschweig hinterlegt.

[0021] Die Anmeldung wird durch die folgenden Beispiele in Verbindungen mit den Sequenzprotokollen und Figuren näher erläutert.

SEQ ID NO 1 zeigt die Nukleinsäuresequenz der erfindungsgemäßen Cholesterinoxidase.

SEQ ID NO 2 zeigt die Aminosäuresequenz der erfindungsgemäßen Cholesterinoxidase.

SEQ ID NO 3 - 5 zeigen Nukleotidsequenzen aus erfindungsgemäßen, für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodierenden DNA's.

SEQ ID NO 6 - 17 zeigen die N-terminalen Sequenzen der erfindungsgemäßen rekombinanten Cholesterinoxidasegene (SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 und 16) bzw. der dazugehörigen N-terminalen Aminosäuresequenzen (SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 und 17).

SEQ ID NO 18 - 29 zeigen die Nukleinsäuresequenzen und dazugehörigen Aminosäuresequenzen von erfindungsgemäßen rekombinanten Cholesterinoxidasen.

[0022] Dabei bedeuten:

Signalsequenz	vollständige Sequenz	Konstrukt
SEQ ID NO 6-7	SEQ ID NO 18-19	plac-Chol-cyt
SEQ ID NO 8-9	SEQ ID NO 20-21	ppfl-Chol-cyt
SEQ ID NO 10-11	SEQ ID NO 22-23	ppfl-MSN3H-Chol-cyt
SEQ ID NO 12-13	SEQ ID NO 24-25	ppfl-MSN4H-Chol-cyt
SEQ ID NO 14-15	SEQ ID NO 26-27	ppfl-MSN4R2K-Chol-cyt
SEQ ID NO 16-17	SEQ ID NO 28-29	ppfl-MVM3H-Chol-cyt

SEQ ID NO 30 - 33 zeigen vier Oligonukleotide für die Amplifikation eines Fragments des erfindungsgemäßen Cholesterinoxidase-Gens.

SEQ ID NO 34 zeigt die Sequenz eines Adapteroligonukleotids für die in vitro-Mutagenese des Cholesterinoxidase-Gens gemäß Beispiel 5.

Fig. 1 zeigt das Plasmid pUC-Chol-B2-BB.

Fig. 2 zeigt das Plasmid plac-Chol-cyt.

Fig. 3 zeigt das Plasmid ppfl-Chol-cyt.

Fig. 4 zeigt das Plasmid ppfl-MSN3H-Chol-cyt.

Beispiel 1

Klonierung des Gens für Cholesterinoxidase aus *Brevibacterium sterolicum*

[0023] *Brevibacterium sterolicum* (BMTU 2407) wird in 500 ml "nutrient broth" (Difco) 20 h bei 30 °C angezüchtet. Die Zellen werden durch Zentrifugation geerntet. Die so gewonnene Zellmasse wird in 20 mmol/l Tris/HCl pH 8,0 zu 0,4 g Zell-Naßgewicht/ml resuspendiert. 2,5 ml dieser Suspension werden mit 5 ml 24 % (w/v) Polyethylenglycol 6000, 2,5 ml 20 mmol/l Tris/HCl pH 8,0 und 10 mg Lysozym versetzt und 14 h bei 4 °C inkubiert. Dann erfolgt die Lyse der Zellen durch Zugabe von 1 ml 20 % (w/v) SDS und 2 mg Protease K und Inkubation für 1 h bei 37 °C. Diese Lösung wird mit dem gleichen Volumen 20 mmol/l Tris/HCl pH 8,0 versetzt und dann pro ml 1 g CsCl sowie 0,8 mg Ethidiumbromid zugegeben. Diese Lösung wird durch Ultrazentrifugation 24 h bei 40.000 Upm in einem TV850 Vertikal-Rotor (DuPont) aufgetrennt. Die DNA-Bande wird dann mit einer Injektionsspritze abgezogen. Die Entfernung des Ethidiumbromids und Ethanol-Fällung der DNA erfolgt wie bei Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (1989) beschrieben.

[0024] 7 µg der so gewonnenen DNA werden partiell mit der Restriktionsendonuklease NlaIII (New England Biolab) geschnitten, auf einem 0,8 % Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und ein Größenbereich von ca. 2 - 12 kb ausgeschnitten. Die DNA-Fragmente werden aus dem Gel isoliert, mit SphI geschnitten und anschließend in einen mit alkalischer Phosphatase aus Kälberdarm behandelten Plasmidvektor pUC19 ligiert. Dieser Ligationsansatz wird in kompetente *E. coli* K12 XL1-blue (Stratagene, Katalog-Nr. 200268) transformiert. Die transformierten Zellen werden auf Agarplatten mit LB-Medium, das 100 µg/ml Ampicillin enthält, ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die hochgewachsenen Kolonien werden auf Nitrocellulosefilter (Schleicher und Schüll) übertragen, durch Behandlung mit Toluol/Chloroform-Dampf lysiert und die Filter mit der Kolonieseite auf Indikatorplatten (s.u.) übertragen. Auf diesen Indikatorplatten erfolgt der Nachweis auf eine Cholesterinoxidase-Aktivität durch 15- bis 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur.

[0025] Klone, die eine Farbreaktion zeigen, werden ausgewählt und isoliert. Zur Kontrolle werden diese *E. coli*-Klone auf einer Agarplatte mit LB-Medium, das 100 µg/ml Ampicillin enthält, ausgestrichen, über Nacht bei 37 °C inkubiert, die angewachsenen Kolonien zur Verifizierung nochmals auf zwei verschiedene Nitrocellulosefilter transferiert und wie oben beschrieben mit Toluol/Chloroformdampf aufgeschlossen. Ein Filter wird wieder auf eine der oben beschriebenen Indikatorplatten aufgelegt, der andere Falter auf eine Indikatorplatte ohne Cholesterin. Eine positive Farbreaktion zeigt sich nur auf den kompletten Indikatorplatten mit dem Substrat Cholesterin. Damit wird nachgewiesen, daß die durch den entsprechenden *E. coli*-Klon hervorgerufene Farbreaktion tatsächlich durch aktive Cholesterinoxidase verursacht wird.

Herstellung der Indikatorplatten:

[0026] Für den Plattentest zur Bestimmung von Cholesterinoxidase-Aktivität werden 100 ml 2%ige low-melting-point-Agarose (Sea Plaque BIOzym 50113) aufgeschmolzen und bei einer Temperatur von 42 °C eine vorgewärmte Lösung von:

- 48 mg 4-Aminoantipyrin (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 073474)
- 306 mg EST (N-Ethyl-N-sulfoethyl-3-methylanilinkaliumsalz (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 586854))
- 2,5 mg Meerrettichperoxidase Reinheitsgrad II (ca. 260 U/mg (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 005096))
- 60 µl Natriumazidlösung (20%ig)
- 10 ml 1 mol/l Kaliumphosphat pH 7,2
- 150 mg Cholsäurenatriumsalz (Merck, Katalog-Nr. 12448)
- 10 ml Cholesterinsubstratlösung (s. u.)
- H₂O ad 100 ml

zu der aufgeschmolzenen Agarose gegeben, vorsichtig gemischt, jeweils 10 ml in Petrischalen gegossen und zur Aufbewahrung dunkel gehalten.

Cholesterinsubstratlösung:

[0027] 500 mg Cholesterin (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 121312) werden in 12,5 ml 1-Propanol (Merck, Katalog-Nr. 997) gelöst, nach Zugabe von 10 g Thesit (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 006190) gut gemischt und H₂O ad 100 ml zugegeben. Die Substratlösung kann bei Raumtemperatur mehrere Monate aufbewahrt werden.

Beispiel 2**Charakterisierung des Cholesterinoxidase-Gens**

[0028] Das Plasmid eines gemäß Beispiel 1 erhaltenen Klons (pUC-Chol-B2) wird nach Standardmethoden isoliert und einer Restriktionskartierung mit den Restriktionsendonukleasen BamHI, EcoRI, KpnI, XhoI, PstI unterzogen. Es zeigt sich, daß ein DNA-Fragment aus dem Genom von Brevibacterium in der Größe von ca. 5,5 kb in dem Plasmid pUC-Chol-B2 insertiert ist. Durch Subklonierung verschiedener Teilfragmente dieses 5,5 kb-Stückes und anschließender Bestimmung der Cholesterin-oxidase-Aktivität der erhaltenen E. coli-Klone kann das Cholesterinoxidase-Gen auf ein BamHI-Fragment von 2,3 kb-Größe eingeeengt werden. Das Plasmid mit diesem Fragment wird pUC-Chol-B2-BB genannt (Fig. 1). Die DNA-Sequenz dieses Fragmentes wird bestimmt und auf einem Leseraster, das für Cholesterinoxidase kodiert, hin untersucht. Die Sequenz dieses Leserahmens für die reife Cholesterinoxidase ist in SEQ ID NO 1 wiedergegeben.

Beispiel 3**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterinoxidase-Gens mit heterologer Signalsequenz**

[0029] Ein Vergleich der N-terminalen Aminosäuresequenz von Cholesterinoxidase, die aus Brevibacterium isoliert wurde, mit dem gesamten für Cholesterinoxidase kodierenden Leseraster von pUC-Chol-B2-BB zeigt, daß im reifen Protein die ersten 52 kodierten Aminosäuren der Gensequenz fehlen. Diese 52 Aminosäuren zeigen die Struktur einer typischen Exportsignalsequenz gram-positiver Prokaryonten (von Heijne, Biochim. Biophys. Acta 947 (1988), 307 - 333). Für die Konstruktion von rekombinanten Cholesterinoxidase-Genen, bei denen diese Signalsequenz gegen andere Sequenzen ersetzt ist, wird zunächst ein 387 bp großes DNA-Fragment aus dem Plasmid pUC-Chol-B2-BB unter Verwendung der in SEQ ID NO 30 und 31 gezeigten Oligonukleotide mittels PCR amplifiziert. Dieses Fragment enthält den für den N-terminalen Teil der reifen Oxidase kodierenden Bereich mit einer neuen SphI-Schnittstelle direkt vor dem N-Terminus der Aminosäuresequenz des reifen Enzyms. Dieses PCR-Fragment wird mit SphI und PstI gespalten und zusammen mit einem PstI EcoRI-Fragment aus pUC-Chol-B2-BB, das den restlichen Anteil des Cholesterinoxidase-Gens enthält, in den mit SphI und EcoRI gespaltenen Expressionsvektor pmgISphI ligiert und so der Vektor pmgI-Chol-SB erhalten. In diesem Vektor enthält das Cholesterinoxidase-Gen eine in E. coli funktionelle Signalsequenz aus Salmonella typhimurium (beschrieben in WO 88/093773).

Beispiel 4**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterin-oxidase-Gens ohne Signalpeptid-kodierende Sequenz unter Kontrolle des lacUV5-Promotors**

[0030] Aus dem Plasmid pmgl-Chol-SB wird durch Behandlung mit den Restriktionsendonukleasen SphI und BamBI ein DNA-Fragment von ca. 1,85 kb Größe herausgeschnitten, das den gesamten Anteil der kodierenden Sequenz der reifen Cholesterinoxidase, aber nicht die für das Signal-Peptid kodierende Sequenz enthält. Dieses Fragment wird in den vorher mit SphI und BamBI geschnittenen Plasmidvektor pUC19 eingesetzt. In dem so erhaltenen Plasmid plac-Chol-cyt liegt das Cholesterin-oxidase-Gen im korrekten Leseraster an die ersten zehn Codons des lacZ'-Gens aus pUC19 anfusioniert vor und liegt unter der Kontrolle des lacUV5-Promotors (Fig. 2).

Beispiel 5**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterin-oxidase-Gens ohne Signalpeptid-kodierende Sequenz unter Kontrolle des sauerstoffregulierten pfl-Promotors**

[0031] Durch PCR-Technik wird aus dem Plasmid plac_Chol_cyt unter Verwendung der in SEQ ID NO 32 und 33 dargestellten Oligonukleotide ein DNA-Fragment von 432 bp Größe erzeugt, das vor dem ATG-Startcodon eine ClaI-Schnittstelle enthält. Dieses PCR-Fragment wird mit ClaI und PstI geschnitten. Durch Behandlung mit den Restriktionsendonukleasen PstI und BamHI wird aus dem Plasmid plac-Chol-cyt weiterhin ein Fragment mit dem restlichen C-terminalen Anteil des Cholesterinoxidase-Gens herausgeschnitten. Beide Fragmente werden simultan in den mit BamHI und ClaI gespaltenen Expressionsvektor pfl 20AT1-SD einligiert. Das korrekte Ligationsprodukt enthält nun den Leserahmen der reifen Cholesterinoxidase anfusioniert an die ersten zehn Codons des lacZ'-Gens aus pUC19 unter der Kontrolle des sauerstoffregulierten pfl-Promotors (Fig. 3). Dieses Plasmid trägt die Bezeichnung ppfl-Chol-cyt.

Beispiel 6**Konstruktion eines Plasmids zur Expression des Cholesterin-oxidase-Gens mit alternativer N-terminaler Fusionssequenz**

[0032] Zur Entfernung der im 3' untranslatierten Bereich des Cholesterinoxidase-Gens gelegenen SphI-Schnittstelle des Plasmids ppfl-Chol-cyt wird die Plasmid-DNA mit SmaI und EcoRV geschnitten und wieder religiert. 100 ng des so entstandenen Plasmids ppfl-Chol-cyt-Aterm werden dann mit den Restriktionsenzymen ClaI und SphI gespalten. Das entstandene 4,76 kb große DNA-Fragment wird in low-melting-point Agarose elektrophoretisch aufgetrennt, ausgeschnitten und eluiert (Glassmilk®-Kit, Bio 101). 100ng des so gereinigten DNA-Fragments werden mit 50 pmol eines Adapter-Oligonukleotids mit der in SEQ ID NO 34 dargestellten Sequenz (wobei "N" eine äquimolare Mischung aller 4 Basen bedeutet) versetzt und 2 Stunden bei 37 °C mit T4-DNA-Ligase behandelt. Anschließend wird der Ansatz mit einer Mischung aus 4 dNTP's (Endkonz. 0,125 mmol/l) versetzt und 40 Minuten bei 37 °C mit Klenow-DNA-Polymerase behandelt. Die so erhaltene Plasmid-DNA wird in E. coli XL1-blue (Stratagene) transformiert. Mit Hilfe des in Beispiel 1 beschriebenen Kolonie-Aktivitätstest werden einzelne Kolonien von erhaltenen Klonen bezüglich ihrer Cholesterinoxidase-Aktivität verglichen. Klone mit hoher Cholesterinoxidase-Aktivität werden isoliert und die Plasmid-DNA durch Restriktionsanalyse und DNA-Sequenzierung charakterisiert. Für das Plasmid eines Klons mit besonders hoher Cholesterinoxidase-Aktivität wird die Sequenz SEQ ID NO 23 ermittelt. Das betreffende Plasmid wird ppfl-MSN3H-Chol-cyt-Aterm genannt. Es ist zu erwarten, daß in der dargestellten Art und Weise nach Isolierung und Charakterisierung genügend vieler verschiedener Klone auch noch weitere für eine besonders hohe Expression geeignete Klone gefunden werden können. Zur Wiedervervollständigung des 3'-untranslatierten Anteils wird das Plasmid ppfl-MSN3H-Chol-cyt-Aterm mit ClaI und XhoI geschnitten. Ein DNA-Fragment von ca. 1,1kb mit der Translationsinitiationsregion und dem N-terminalen Anteil des Cholesterinoxidase-Gens wird isoliert und in das ebenfalls mit ClaI und XhoI geschnittene Plasmid ppfl-Chol-cyt einligiert (Fig. 4). Das erhaltene Plasmid trägt die Bezeichnung ppfl-MSN3H-Chol-cyt.

Beispiel 7**Vergleich der Bildung von Cholesterinoxidase durch die verschiedenen Expressionsplasmide in E. coli**

[0033] Die Plasmide pUC-Chol-B2, pUC-Chol-B2-BB, pmgl-Chol-SB, plac-Chol-cyt, ppfl-Chol-cyt, ppfl-MSN3H-Chol-cyt werden jeweils in E. coli K12 XL1-blue transformiert. Zum Vergleich der gebildeten Enzymmenge werden die Klone jeweils 15 Stunden bei 30 °C in LB-Medium, das 200 µg/ml Ampicillin und folgende weiteren Zusätze

enthält, angezogen:

Klone mit den Plasmiden pUC-Chol-B2, pUC-Chol-B2-BB, plac-Chol-cyt, bei denen das Cholesterinoxidase-Gen jeweils unter der Kontrolle des lacUV5-Promotors steht, bekommen zusätzlich 1 mmol/l IPTG, der Klon mit dem Plasmid pmgl-Chol-SB mit dem Glucose-reprimierten mgl-Promotor erhält keinen weiteren Zusatz, Klone mit den Plasmiden ppfl-Chol-cyt, ppfl-MSN3H-Chol-cyt mit dem sauerstoffregulierten pfl-Promotor erhalten 0,4% Glucose und werden in Stickstoff begasten verschlossenen Serumflaschen angezogen, wobei das Medium mit KOH auf pH 7,0 eingestellt wurde. Nach erfolgter Anzucht wird die erreichte Zelldichte durch photometrische Messung der Trübung bei 420 nm bestimmt. Die Zellen von 1 ml Kulturbrühe werden dann durch Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge bei 10.000 g sedimentiert und wieder in 0,5 ml H₂O bidest resuspendiert. Der Zellaufschluß erfolgt durch 2 x 30 Sekunden Ultraschallbehandlung (Branson Sonifier, Modell 450, Standard-Microtip, Konisch). Die so erhaltenen Zellextrakte werden nach entsprechender Verdünnung in den folgenden Enzymtest eingesetzt: Hierzu werden in Quartz-Küvetten pipettiert: 3 ml Kaliumphosphatpuffer (0,5 mol/l, pH 7,5), der 0,4 % Thesit® (Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 006190) enthält,

0,1 ml Cholesterinlösung (0,4 % Cholesterin, 10 % 1-Propanol, 10 % Thesit®),

0,02 ml H₂O₂ (0,49 mol/l in bidest. Wasser),

es wird gemischt, nach Zugabe von 0,02 ml Katalase (aus Rinderleber, 20 mg Protein/ml, spezifische Aktivität ca. 65.000 U/mg, Boehringer Mannheim GmbH, Katalog-Nr. 0156744 unmittelbar vor Messung mit eiskaltem Kaliumphosphatpuffer, der 0,4 % Thesit enthält, auf 0,075 - 0,15 U/ml verdünnt) erneut gemischt, die Lösung auf eine Temperatur von 25°C gebracht und anschließend die Reaktion durch Zugabe von 0,05 ml Probelösung gestartet. Nach vorsichtigem Mischen wird die Absorptionsänderung bei 240 nm verfolgt und die Aktivität der Cholesterinoxidase aus dem linearen Bereich der Absorptionskurve ermittelt:

$$\text{Aktivität} = \frac{3,19}{\epsilon \times 240 \times 0,05 \times 1} \Delta A \text{ min. (U/ml Probelösung)}$$

wobei $\epsilon \times 240 = 15,5 \text{ mmol}^{-1} \times 1 \times \text{cm}^{-1}$ ist.

[0034] Die erhaltenen Werte für Zelldichte und Enzymaktivität sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1

Klon/Plasmid	Zelldichte (E 420)	Units je Zelldichte	Units pro ml
pUC-Chol-B2	7,0	0,007	0,049
pUC-Chol-B2-BB	8,4	0,068	0,571
pmgl-Chol-SB	1,3	0,014	0,018
plac-Chol-cyt	8,6	0,725	6,235
ppfl-Chol-cyt	1,25	1,675	2,094
ppfl-MSN3H-Chol-cyt	3,7	1,463	5,413

[0035] Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß mit solchen Konstrukten, die eine zytoplasmatische Expression der Cholesterinoxidase bewirken, eine deutlich höhere Aktivität der rekombinant hergestellten Cholesterinoxidase erhalten werden kann als mit solchen Konstrukten, die zu einer Sekretion der rekombinant hergestellten Cholesterinoxidase führen.

SEQUENZPROTOKOLL

[0036]

(1) ALGEMEINE INFORMATION:

(i) ANMELDER:

(A) NAME: Boehringer Mannheim GmbH

- (B) STRASSE: Sandhofer Str. 116
- (C) ORT: Mannheim
- (E) LAND: Deutschland
- (F) POSTLEITZAHL: D - 6800

5

(ii) ANMELDETITEL: Cholesterinoxidase aus Brevibacterium sterolicum

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 34

10

(iv) COMPUTER-LESBARE FORM:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPA)

15

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

20

- (A) LANGE: 1683 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

25

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(ix) MERKMALE:

30

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LÄNGE: 1..1683

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

35

40

45

50

55

5	TCG ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn 1 5 10 15	48
10	GAC ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile 20 25 30	96
15	ATG CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val 35 40 45	144
20	GTT CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro 50 55 60	192
25	CGC GGC GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC Arg Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala 65 70 75 80	240
30	AAC GTC GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC Asn Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly 85 90 95	288
35	ATC ACG GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala 100 105 110	336
40	GGC GCC AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu 115 120 125	384
45	GGC TGG GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala 130 135 140	432
50	CTT GCG GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr 145 150 155 160	480
55	ACG CTG CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu 165 170 175	528
60	CTG ACC GCG GTC GTC TGG AAC GGC ACC ACC TAC GCA CTC GAG ACG TAC Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr 180 185 190	576
65	CAG CGC AAC GAT CCT CGG ATC ACC CCA CTG CTC ACC AAC CTC GGG CGC Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg 195 200 205	624
70	TGC TTC CTG ACC TCG GTG ACG ATG CAG GCC GGC CCC AAC TTC CGT CAG Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln 210 215 220	672
75	CGG TGC CAG AGC TAC ACC GAC ATC CCG TGG CGG GAA CTG TTC GCG CCG Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro 225 230 235 240	720

	AAG	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	768
	Lys	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	
					245					250					255		
5	GGC	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	816
	Gly	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	
				260					265					270			
10	GTG	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	864
	Val	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	
			275					280					285				
15	AGC	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	912
	Ser	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	
		290					295					300					
20	GAG	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	960
	Glu	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	
	305					310					315					320	
25	CCC	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	GGA	ATC	1008
	Pro	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	
				325						330					335		
30	GCA	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	GGG	CTG	1056
	Ala	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Gly	Leu	
				340					345					350			
35	GCC	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	GTC	CAG	1104
	Ala	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	Val	Gln	
			355					360					365				
40	TTC	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	GGC	GCC	1152
	Phe	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	
		370					375					380					
45	GTC	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	TTC	ACC	1200
	Val	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	
	385					390					395					400	
50	GAG	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	GAG	TTC	1248
	Glu	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	Glu	Phe	
				405					410						415		
55	CCG	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	CAG	GCA	1296
	Pro	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	Gln	Ala	
				420					425					430			
60	GCC	GAC	GTC	AAG	GTG	CCG	TCG	GTG	GGC	CCG	CCG	ACC	ATC	TCG	GCG	ACC	1344
	Ala	Asp	Val	Lys	Val	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	Ala	Thr	
			435					440					445				
65	CGT	CCG	CGT	CCG	GAT	CAT	CCG	GAC	TGG	GAC	GTC	GCG	ATC	TGG	CTG	AAC	1392
	Arg	Pro	Arg	Pro	Asp	His	Pro	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	Leu	Asn	
		450					455					460					
70	GTT	CTC	GGT	GTT	CCG	GGC	ACC	CCC	GGC	ATG	TTC	GAG	TTC	TAC	CGC	GAG	1440
	Val	Leu	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	Arg	Glu	
	465					470					475					480	
75	ATG	GAG	CAG	TGG	ATG	CGG	AGC	CAC	TAC	AAC	AAC	GAC	GAC	GCC	ACC	TTC	1488
	Met	Glu	Gln	Trp	Met	Arg	Ser	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	Thr	Phe	
					485					490					495		

	CGG	CCC	GAG	TGG	TCG	AAG	GGG	TGG	GCG	TTC	GGT	CCC	GAC	CCG	TAC	ACC	1536
	Arg	Pro	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	Tyr	Thr	
				500					505					510			
5																	
	GAC	AAC	GAC	ATC	GTC	ACG	AAC	AAG	ATG	CGC	GCC	ACC	TAC	ATC	GAA	GGT	1584
	Asp	Asn	Asp	Ile	Val	Thr	Asn	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	Glu	Gly	
			515					520					525				
10																	
	GTC	CCG	ACG	ACC	GAG	AAC	TGG	GAC	ACC	GCG	CGC	GCT	CGG	TAC	AAC	CAG	1632
	Val	Pro	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	Asn	Gln	
			530				535						540				
15																	
	ATC	GAC	CCG	CAT	CGC	GTG	TTC	ACC	AAC	GGA	TTC	ATG	GAC	AAG	CTG	CTT	1680
	Ile	Asp	Pro	His	Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	Leu	Leu	
	545					550					555					560	
	CCG																1683
	Pro																

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LANGE: 561 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn
 1 5 10 15
 5 Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile
 20 25 30
 Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val
 35 40 45
 10 Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro
 50 55 60
 Arg Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala
 65 70 75 80
 15 Asn Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly
 85 90 95
 Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala
 100 105 110
 20 Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu
 115 120 125
 Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala
 130 135 140
 25 Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr
 145 150 155 160
 Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu
 165 170 175
 30 Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr
 180 185 190
 Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg
 195 200 205
 35 Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln
 210 215 220
 Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro
 225 230 235 240
 Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly
 245 250 255
 40 Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys
 260 265 270
 45
 50
 55

Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly
 275 280 285
 Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg
 290 295 300
 Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu
 305 310 315 320
 Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile
 325 330 335
 Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu
 340 345 350
 Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln
 355 360 365
 Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala
 370 375 380
 Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr
 385 390 395 400
 Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe
 405 410 415
 Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala
 420 425 430
 Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr
 435 440 445
 Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn
 450 455 460
 Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu
 465 470 475 480
 Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe
 485 490 495
 Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr
 500 505 510
 Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly
 515 520 525
 Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln
 530 535 540
 Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 48 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

5

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

TTCCCGCTCA ACGGTCCGGT CGAGATCCGC TGCTGCGGGC TCGATCAG

48

10

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

15

- (A) LÄNGE: 48 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

20

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

GCGATCTGGC TGAACGTTCT CGGTGTTCCG GGCACCCCCG GCATGTTT

48

25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

30

- (A) LÄNGE: 36 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

35

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

GACGCCACCT TCCGGCCCGA GTGGTCGAAG GGGTGG

36

40

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

45

- (A) LANGE: 46 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

50

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 17..46

55

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

CACACAGGAA ACAGCT ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC
Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
1 5 10

46

5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

10

- (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

15

(ii) ART DES KOLEKULS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
1 5 10

20

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

25

- (A) LÄNGE: 49 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

30

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLUSSEL: CDS
- (B) LÄGE: 20..49

35

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

GAATTTAAGG GGAACATCG ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC
Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
1 5 10

40

49

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

45

- (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

50

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala
1 5 10

55

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 5 (A) LÄNGE: 43 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

10 (ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LÄGE: 20..43

15 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT CAC CAT GGG CAT GCC 43
 Met Ser Asn His His Gly His Ala
 1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 11:

25 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 8 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

30 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein
 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

35 Met Ser Asn His His Gly His Ala
 1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 12:

40 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 45 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

45 (ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LÄGE: 19..45

50 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

55 AATTTGGAGG GGAACATT ATG AGT AAT CAT CAC CAT GGG CAT GCC 45
 Met Ser Asn His His His Gly His Ala
 1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 13:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 5 (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

10 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

Met Ser Asn His His His Gly His Ala
1 5

15

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 14:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 20 (A) LANGE: 58 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzel
(D) TOPOLOGIE: linear

25 (ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) LAGE: 20..58

30 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT ACG CGT AAA CGC AAG CGC CGT ACG 52
Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr
1 5 10

35

CAT GCC 58
His Ala

40

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 15:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 45 (A) LÄNGE: 13 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

50 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 15:

Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr His Ala
1 5 10

55

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 16:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 48 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

5

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 25..48

10

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:

GAATTCACAC AGGAAACAGA ATTC ATG GTT ATG CAC CAT GGG CAT GCC
Met Val Met His His Gly His Ala
1 5

15

48

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 17:

20

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 8 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

25

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:

30

Met Val Met His His Gly His Ala
1 5

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 18:

35

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 1729 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

40

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 17..1729

45

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

50

55

	CACACAGGAA ACAGCT ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC TCG	49
	Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser	
	1 5 10	
5	ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC	97
	Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp	
	15 20 25	
10	ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG	145
	Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met	
	30 35 40	
15	CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT	193
	Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val	
	45 50 55	
20	CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC	241
	Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg	
	60 65 70 75	
25		
30		
35		
40		
45		
50		
55		

	GGC	GCG	ATG	CAC	GGC	TGG	ACC	CCG	CTC	ACC	GTG	GAG	AAG	GGG	GCC	AAC	289
	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	
					80					85					90		
5	GTC	GAG	AAG	GTG	ATC	CTC	GCC	GAC	ACG	ATG	ACG	CAT	CTG	AAC	GGC	ATC	337
	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	Asn	Gly	Ile	
				95					100					105			
10	ACG	GTG	AAC	ACG	GGC	GGC	CCC	GTG	GCT	ACC	GTG	ACC	GCC	GGT	GCC	GGC	385
	Thr	Val	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	
			110					115					120				
15	GCC	AGC	ATC	GAG	GCG	ATC	GTG	ACC	GAA	CTG	CAG	AAG	CAC	GAC	CTC	GGC	433
	Ala	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	Asp	Leu	Gly	
		125					130					135					
20	TGG	GCC	AAC	CTG	CCC	GCT	CCG	GGT	GTG	CTG	TCG	ATC	GGT	GGC	GCC	CTT	481
	Trp	Ala	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	Gly	Ala	Leu	
	140					145					150					155	
25	GCG	GTC	AAC	GCG	CAC	GGT	GCG	GCG	CTG	CCG	GCC	GTG	GGC	CAG	ACC	ACG	529
	Ala	Val	Asn	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	Gln	Thr	Thr	
				160						165					170		
30	CTG	CCC	GGT	CAC	ACC	TAC	GGT	TCG	CTG	AGC	AAC	CTG	GTG	ACC	GAG	CTG	577
	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Glu	Leu	
				175					180					185			
35	ACC	GCG	GTG	GTG	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	625
	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	
			190					195					200				
40	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	CGC	TGC	673
	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	
		205					210					215					
45	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	721
	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	
	220					225					230					235	
50	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	769
	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	
				240					245						250		
55	GGC	GCC	GAC	GGC	GCG	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTG	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	817
	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	
			255					260					265				
60	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	865
	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	
			270					275					280				
65	TGG	ACG	GTG	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTG	GGA	AGC	913
	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	
		285					290					295					
70	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTG	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	961
	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	
	300					305					310					315	
75	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	1009
	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	
				320						325					330		

5	ATC ACC GAC ATG ATC GGC GCC ATC AAC GCC GGA AAC CCC GGA ATC GCA Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala 335 340 345	1057
10	CCG CTG TTC GGC CCG GCG ATG TAC GAG ATC ACC AAG CTC GGG CTG GCC Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala 350 355 360	1105
15	GCG ACG AAT GCC AAC GAC ATC TGG GGC TGG TCG AAG GAC GTC CAG TTC Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe 365 370 375	1153
20	TAC ATC AAG GCC ACG ACG TTG CGA CTC ACC GAG GGC GGC GGC GCC GTC Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val 380 385 390 395	1201
25	GTC ACG AGC CGC GCC AAC ATC GCG ACC GTG ATC AAC GAC TTC ACC GAG Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu 400 405 410	1249
30	TGG TTC CAC GAG CGC ATC GAG TTC TAC CGC GCG AAG GGC GAG TTC CCG Trp Phe His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro 415 420 425	1297
35	CTC AAC GGT CCG GTC GAG ATC CGC TGC TGC GGG CTC GAT CAG GCA GCC Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala 430 435 440	1345
40	GAC GTC AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC CGT Asp Val Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg 445 450 455	1393
45	CCG CGT CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC GTT Pro Arg Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val 460 465 470 475	1441
50	CTC GGT GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG ATG Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met 480 485 490	1489
55	GAG CAG TGG ATG CGG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC CGG Glu Gln Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg 495 500 505	1537
60	CCC GAG TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC GAC Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp 510 515 520	1585
65	AAC GAC ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT GTC Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val 525 530 535	1633
70	CCG ACG ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CGG TAC AAC CAG ATC Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile 540 545 550 555	1681
75	GAC CCG CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT CCG Asp Pro His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro 560 565 570	1729

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 19:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 571 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

```

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala
 1           5           10           15
Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln
                20           25           30
Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp
          35           40           45
Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp
      50           55           60
Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala Met His Gly
 65           70           75           80
Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu Lys Val Ile
                85           90           95
Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly
      100           105           110
Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala
      115           120           125
Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro
      130           135           140
Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His
      145           150           155           160
Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr
                165           170           175
Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp
      180           185           190
Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg
      195           200           205
Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val
      210           215           220
Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr
      225           230           235           240
Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg
                245           250           255
Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp
      260           265           270

```

Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro
 275 280 285
 5 Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly
 290 295 300
 Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr
 305 310 315 320
 10 Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile
 325 330 335
 Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro
 340 345 350
 15 Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn
 355 360 365
 Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr
 370 375 380
 20 Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala
 385 390 395 400
 Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg
 405 410 415
 25 Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val
 420 425 430
 Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro
 435 440 445
 30 Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His
 450 455 460
 Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly
 465 470 475 480
 Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg
 485 490 495
 40 Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys
 500 505 510
 Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr
 515 520 525
 45 Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn
 530 535 540
 Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val
 545 550 555 560
 50 Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565 570

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 20:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 1732 Basenpaare

(B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

5 (ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 20..1732

10 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

	GAATTTAAGG GGAACATCG ATG ACC ATG ATT ACG CCA AGC TTG CAT GCC TCG	52
	Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser	
15	1 5 10	
	ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC	100
	Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp	
	15 20 25	
20	ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG	148
	Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met	
	30 35 40	
	CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT	196
25	Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val	
	45 50 55	
	CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC	244
	Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg	
	60 65 70 75	
30	GGC GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC AAC	292
	Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn	
	80 85 90	
	GTC GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC ATC	340
35	Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile	
	95 100 105	
	ACG GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC GGC	388
	Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly	
	110 115 120	
40	GCC AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC GGC	436
	Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly	
	125 130 135	
	TGG GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC CTT	484
45	Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu	
	140 145 150 155	
	GCG GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC ACG	532
50	Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr	
	160 165 170	
	CTG CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG CTG	580
	Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu	
	175 180 185	
55		

	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	628
	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	
			190					195					200				
5	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	CGC	TGC	676
	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	
		205					210					215					
10	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	724
	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	
		220				225					230					235	
	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	772
	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	
					240					245					250		
15	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	820
	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	
				255					260					265			
20	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	868
	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	
			270					275					280				
	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	916
	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	
25			285				290					295					
	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	964
	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	
		300				305					310					315	
30	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	1012
	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	
					320					325					330		
	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	GGA	ATC	GCA	1060
35	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	Ala	
				335					340					345			
	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	GGG	CTG	GCC	1108
	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Gly	Leu	Ala	
			350					355					360				
40	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	GTC	CAG	TTC	1156
	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	Val	Gln	Phe	
			365				370					375					
	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	GGC	GCC	GTC	1204
45	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	Val	
						385					390					395	
	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	TTC	ACC	GAG	1252
	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	Glu	
					400					405					410		
50	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	GAG	TTC	CCG	1300
	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	Glu	Phe	Pro	
				415					420					425			
	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	CAG	GCA	GCC	1348
55	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	
			430					435					440				

5	GAC Asp	GTC Val	AAG Lys	GTG Val	CCG Pro	TCG Ser	GTG Val	GGC Gly	CCG Pro	CCG Pro	ACC Thr	ATC Ile	TCG Ser	GCG Ala	ACC Thr	CGT Arg	1396
	445						450					455					
	CCG Pro	CGT Arg	CCG Pro	GAT Asp	CAT His	CCG Pro	GAC Asp	TGG Trp	GAC Asp	GTC Val	GCG Ala	ATC Ile	TGG Trp	CTG Leu	AAC Asn	GTT Val	1444
	460					465					470					475	
10	CTC Leu	GGT Gly	GTT Val	CCG Pro	GGC Gly	ACC Thr	CCC Pro	GGC Gly	ATG Met	TTC Phe	GAG Glu	TTC Phe	TAC Tyr	CGC Arg	GAG Glu	ATG Met	1492
					480					485					490		
15	GAG Glu	CAG Gln	TGG Trp	ATG Met	CGG Arg	AGC Ser	CAC His	TAC Tyr	AAC Asn	AAC Asn	GAC Asp	GAC Asp	GCC Ala	ACC Thr	TTC Phe	CGG Arg	1540
				495					500					505			
	CCC Pro	GAG Glu	TGG Trp	TCG Ser	AAG Lys	GGG Gly	TGG Trp	GCG Ala	TTC Phe	GGT Gly	CCC Pro	GAC Asp	CCG Pro	TAC Tyr	ACC Thr	GAC Asp	1588
			510					515					520				
20	AAC Asn	GAC Asp	ATC Ile	GTC Val	ACG Thr	AAC Asn	AAG Lys	ATG Met	CGC Arg	GCC Ala	ACC Thr	TAC Tyr	ATC Ile	GAA Glu	GGT Gly	GTC Val	1636
	525						530					535					
25	CCG Pro	ACG Thr	ACC Thr	GAG Glu	AAC Asn	TGG Trp	GAC Asp	ACC Thr	GCG Ala	CGC Arg	GCT Ala	CCG Arg	TAC Tyr	AAC Asn	CAG Gln	ATC Ile	1684
	540					545					550					555	
30	GAC Asp	CCG Pro	CAT His	CGC Arg	GTG Val	TTC Phe	ACC Thr	AAC Asn	GGA Gly	TTC Phe	ATG Met	GAC Asp	AAG Lys	CTG Leu	CTT Leu	CCG Pro	1732
					560					565					570		

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 21:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 571 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

Met Thr Met Ile Thr Pro Ser Leu His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala
 1 5 10 15
 5 Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln
 20 25 30
 Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp
 35 40 45
 10 Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp
 50 55 60
 Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala Met His Gly
 65 70 75 80
 15 Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu Lys Val Ile
 85 90 95

20

25

30

35

40

45

50

55

Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly
 100 105 110
 5 Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala
 115 120 125
 Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro
 130 135 140
 10 Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His
 145 150 155 160
 Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr
 165 170 175
 15 Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp
 180 185 190
 Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg
 195 200 205
 20 Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val
 210 215 220
 Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr
 225 230 235 240
 25 Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg
 245 250 255
 Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp
 260 265 270
 30 Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro
 275 280 285
 Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly
 290 295 300
 35 Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr
 305 310 315 320
 Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile
 325 330 335
 40 Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro
 340 345 350
 Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn
 355 360 365
 45 Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr
 370 375 380
 Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala
 385 390 395 400
 50 Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg
 405 410 415
 55 Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val
 420 425 430

Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro
 435 440 445
 5 Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His
 450 455 460
 Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly
 465 470 475 480
 10 Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg
 485 490 495
 Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys
 500 505 510
 15 Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr
 515 520 525
 Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn
 530 535 540
 20 Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val
 545 550 555 560
 Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565 570
 25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1726 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 20..1726

(xi) SEQUENZ BESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

	GAATTTAAGG	GGAACATCG	ATG	AGT	AAT	CAC	CAT	GGG	CAT	GCC	TCG	ACC	GGG				52
			Met	Ser	Asn	His	His	Gly	His	Ala	Ser	Thr	Gly				
			1					5				10					
5	CCG	GTC	GCG	CCG	CTT	CCG	ACG	CCG	CCG	AAC	TTC	CCG	AAC	GAC	ATC	GCG	100
	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Pro	Thr	Pro	Pro	Asn	Phe	Pro	Asn	Asp	Ile	Ala	
			15					20					25				
	CTG	TTC	CAG	CAG	GCG	TAC	CAG	AAC	TGG	TCC	AAG	GAG	ATC	ATG	CTG	GAC	148
10	Leu	Phe	Gln	Gln	Ala	Tyr	Gln	Asn	Trp	Ser	Lys	Glu	Ile	Met	Leu	Asp	
			30					35					40				
	GCC	ACT	TGG	GTC	TGC	TCG	CCC	AAG	ACG	CCG	CAG	GAT	GTC	GTT	CGC	CTT	196
	Ala	Thr	Trp	Val	Cys	Ser	Pro	Lys	Thr	Pro	Gln	Asp	Val	Val	Arg	Leu	
		45					50					55					
15	GCC	AAC	TGG	GCG	CAC	GAG	CAC	GAC	TAC	AAG	ATC	CGC	CCG	CGC	GGC	GCG	244
	Ala	Asn	Trp	Ala	His	Glu	His	Asp	Tyr	Lys	Ile	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	
	60					65					70					75	
20																	
25																	
30																	
35																	
40																	
45																	
50																	
55																	

	ATG	CAC	GGC	TGG	ACC	CCG	CTC	ACC	GTG	GAG	AAG	GGG	GCC	AAC	GTC	GAG	292
	Met	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	
					80					85					90		
5	AAG	GTG	ATC	CTC	GCC	GAC	ACG	ATG	ACG	CAT	CTG	AAC	GGC	ATC	ACG	GTG	340
	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	
				95					100					105			
10	AAC	ACG	GGC	GGC	CCC	GTG	GCT	ACC	GTC	ACC	GCC	GGT	GCC	GGC	GCC	AGC	388
	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ser	
			110					115					120				
	ATC	GAG	GCG	ATC	GTC	ACC	GAA	CTG	CAG	AAG	CAC	GAC	CTC	GGC	TGG	GCC	436
	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	
		125					130					135					
15	AAC	CTG	CCC	GCT	CCG	GGT	GTG	CTG	TCG	ATC	GGT	GGC	GCC	CTT	GCG	GTC	484
	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	
		140				145					150					155	
20	AAC	GCG	CAC	GGT	GCG	GCG	CTG	CCG	GCC	GTC	GGC	CAG	ACC	ACG	CTG	CCC	532
	Asn	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	Gln	Thr	Thr	Leu	Pro	
					160					165					170		
	GGT	CAC	ACC	TAC	GGT	TCG	CTG	AGC	AAC	CTG	GTC	ACC	GAG	CTG	ACC	GCG	580
	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Glu	Leu	Thr	Ala	
25				175					180					185			
	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	CGC	AAC	628
	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	Arg	Asn	
			190					195					200				
30	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	GCG	TGC	TTC	CTG	676
	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	Phe	Leu	
		205					210					215					
	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	TGC	CAG	724
	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	Cys	Gln	
35						225					230					235	
	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	GGC	GCC	772
	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	Gly	Ala	
					240				245						250		
40	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	GCC	GAG	820
	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	Ala	Glu	
				255					260					265			
	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	TGG	ACG	868
	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	Trp	Thr	
45			270					275					280				
	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	CTC	GGC	916
	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	
		285					290					295					
50	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	GTC	TCC	964
	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	Val	Ser	
		300				305					310					315	
55	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	ATC	ACC	1012
	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	Ile	Thr	
					320					325					330		

5	GAC ATG ATC GGC GCC ATC AAC GCC GGA AAC CCC GGA ATC GCA CCG CTG Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu 335 340 345	1060
10	TTC GGC CCG GCG ATG TAC GAG ATC ACC AAG CTC GGG CTG GCC GCG ACG Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr 350 355 360	1108
15	AAT GCC AAC GAC ATC TGG GGC TGG TCG AAG GAC GTC CAG TTC TAC ATC Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile 365 370 375	1156
20	AAG GCC ACG ACG TTG CGA CTC ACC GAG GGC GGC GGC GCC GTC GTC ACG Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr 380 385 390 395	1204
25	AGC CGC GCC AAC ATC GCG ACC GTG ATC AAC GAC TTC ACC GAG TGG TTC Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe 400 405 410	1252
30	CAC GAG CGC ATC GAG TTC TAC CGC GCG AAG GGC GAG TTC CCG CTC AAC His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn 415 420 425	1300
35	GGT CCG GTC GAG ATC CGC TGC TGC GGG CTC GAT CAG GCA GCC GAC GTC Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val 430 435 440	1348
40	AAG GTG CCG TCG GTG GGC CCG CCG ACC ATC TCG GCG ACC CGT CCG CGT Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg 445 450 455	1396
45	CCG GAT CAT CCG GAC TGG GAC GTC GCG ATC TGG CTG AAC GTT CTC GGT Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly 460 465 470 475	1444
50	GTT CCG GGC ACC CCC GGC ATG TTC GAG TTC TAC CGC GAG ATG GAG CAG Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln 480 485 490	1492
55	TGG ATG CGG AGC CAC TAC AAC AAC GAC GAC GCC ACC TTC CGG CCC GAG Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu 495 500 505	1540
	TGG TCG AAG GGG TGG GCG TTC GGT CCC GAC CCG TAC ACC GAC AAC GAC Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp 510 515 520	1588
	ATC GTC ACG AAC AAG ATG CGC GCC ACC TAC ATC GAA GGT GTC CCG ACG Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr 525 530 535	1636
	ACC GAG AAC TGG GAC ACC GCG CGC GCT CGG TAC AAC CAG ATC GAC CCG Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro 540 545 550 555	1684
	CAT CGC GTG TTC ACC AAC GGA TTC ATG GAC AAG CTG CTT CCG His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro 560 565	1726

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 23:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LANGE: 569 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

5

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:

10

Met Ser Asn His His Gly His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu
1 5 10 15

Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala
20 25 30

15

Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys
35 40 45

Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His
50 55 60

20

Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala Met His Gly Trp Thr
65 70 75 80

Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu Lys Val Ile Leu Ala
85 90 95

25

Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro
100 105 110

Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val
115 120 125

30

Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro
130 135 140

Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala
145 150 155 160

35

Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly
165 170 175

Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly
180 185 190

40

Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr
195 200 205

Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met
210 215 220

45

Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile
225 230 235 240

Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr Phe
245 250 255

50

Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr Pro
260 265 270

55

Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys
 275 280 285
 5 Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu
 290 295 300
 Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr
 305 310 315 320
 10 Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala
 325 330 335
 Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met
 340 345 350
 15 Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile
 355 360 365
 Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu
 370 375 380
 20 Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile
 385 390 395 400
 Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu
 405 410 415
 25 Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile
 420 425 430
 Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val
 435 440 445
 30 Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp
 450 455 460
 Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro
 465 470 475 480
 Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His
 485 490 495
 40 Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp
 500 505 510
 Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys
 515 520 525
 45 Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp
 530 535 540
 Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr
 545 550 555 560
 50 Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565

55 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 24:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 1728 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 19..1728

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:

15	AATTTGGAGG GGAACATT ATG AGT AAT CAT CAC CAT GGG CAT GCC TCG ACC	51
	Met Ser Asn His His His Gly His Ala Ser Thr	
	1 5 10	
20	GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC ATC	99
	Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile	
	15 20 25	
25	GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG CTG	147
	Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu	
	30 35 40	
30	GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT CGC	195
	Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg	
	45 50 55	
35	CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC GGC	243
	Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly	
	60 65 70 75	
40	GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC AAC GTC	291
	Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val	
	80 85 90	
45	GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC ATC ACG	339
	Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr	
	95 100 105	
50	GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC GGC GCC	387
	Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala	
	110 115 120	
55	AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC GGC TGG	435
	Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp	
	125 130 135	
60	GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC CTT GCG	483
	Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala	
	140 145 150 155	
65	GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC ACG CTG	531
	Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu	
	160 165 170	
70	CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG CTG ACC	579
	Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr	
	175 180 185	

5	GCG Ala	GTC Val	GTC Val	TGG Trp	AAC Asn	GGC Gly	ACC Thr	ACC Thr	TAC Tyr	GCA Ala	CTC Leu	GAG Glu	ACG Thr	TAC Tyr	CAG Gln	CGC Arg	627
			190					195					200				
	AAC Asn	GAT Asp	CCT Pro	CGG Arg	ATC Ile	ACC Thr	CCA Pro	CTG Leu	CTC Leu	ACC Thr	AAC Asn	CTC Leu	GGG Gly	CGC Arg	TGC Cys	TTC Phe	675
		205					210					215					
10	CTG Leu	ACC Thr	TCG Ser	GTG Val	ACG Thr	ATG Met	CAG Gln	GCC Ala	GGC Gly	CCC Pro	AAC Asn	TTC Phe	CGT Arg	CAG Gln	CGG Arg	TGC Cys	723
	220					225					230					235	
	CAG Gln	AGC Ser	TAC Tyr	ACC Thr	GAC Asp	ATC Ile	CCG Pro	TGG Trp	CGG Arg	GAA Glu	CTG Leu	TTC Phe	CGC Ala	CCG Pro	AAG Lys	GGC Gly	771
15					240					245					250		
	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	CGC Arg	ACG Thr	TTC Phe	GAG Glu	AAG Lys	TTC Phe	GTC Val	GCG Ala	GAA Glu	TCG Ser	GGC Gly	GGC Gly	GCC Ala	819
				255				260						265			
20	GAG Glu	GCG Ala	ATC Ile	TGG Trp	TAC Tyr	CCG Pro	TTC Phe	ACC Thr	GAG Glu	AAG Lys	CCG Pro	TGG Trp	ATG Met	AAG Lys	GTG Val	TGG Trp	867
			270					275					280				
	ACG Thr	GTC Val	TCG Ser	CCG Pro	ACC Thr	AAG Lys	CCG Pro	GAC Asp	TCG Ser	TCG Ser	AAC Asn	GAG Glu	GTC Val	GGA Gly	AGC Ser	CTC Leu	915
25		285					290					295					
	GGC Gly	TCG Ser	GCG Ala	GGC Gly	TCC Ser	CTC Leu	GTC Val	GGC Gly	AAG Lys	CCT Pro	CCG Pro	CAG Gln	GCG Ala	CGT Arg	GAG Glu	GTC Val	963
	300					305					310					315	
30	TCC Ser	GGC Gly	CCG Pro	TAC Tyr	AAC Asn	TAC Tyr	ATC Ile	TTC Phe	TCC Ser	GAC Asp	AAC Asn	CTG Leu	CCG Pro	GAG Glu	CCC Pro	ATC Ile	1011
					320					325					330		
	ACC Thr	GAC Asp	ATG Met	ATC Ile	GGC Gly	GCC Ala	ATC Ile	AAC Asn	GCC Ala	GGA Gly	AAC Asn	CCC Pro	GGA Gly	ATC Ile	GCA Ala	CCG Pro	1059
35				335				340					345				
	CTG Leu	TTC Phe	GGC Gly	CCG Pro	GCG Ala	ATG Met	TAC Tyr	GAG Glu	ATC Ile	ACC Thr	AAG Lys	CTC Leu	GGG Gly	CTG Leu	GCC Ala	GCG Ala	1107
			350					355					360				
40	ACG Thr	AAT Asn	GCC Ala	AAC Asn	GAC Asp	ATC Ile	TGG Trp	GGC Gly	TGG Trp	TCG Ser	AAG Lys	GAC Asp	GTC Val	CAG Gln	TTC Phe	TAC Tyr	1155
		365					370					375					
	ATC Ile	AAG Lys	GCC Ala	ACG Thr	ACG Thr	TTG Leu	CGA Arg	CTC Leu	ACC Thr	GAG Glu	GGC Gly	GGC Gly	GGC Gly	GCC Ala	GTG Val	GTG Val	1203
45		380				385					390					395	
	ACG Thr	AGC Ser	CGC Arg	GCC Ala	AAC Asn	ATC Ile	GCG Ala	ACC Thr	GTG Val	ATC Ile	AAC Asn	GAC Asp	TTC Phe	ACC Thr	GAG Glu	TGG Trp	1251
50					400				405					410			
	TTC Phe	CAC His	GAG Glu	CGC Arg	ATC Ile	GAG Glu	TTC Phe	TAC Tyr	CGC Arg	GCG Ala	AAG Lys	GGC Gly	GAG Glu	TTC Phe	CCG Pro	CTC Leu	1299
				415					420					425			
55	AAC Asn	GGT Gly	CCG Pro	GTC Val	GAG Glu	ATC Ile	CGC Arg	TGC Cys	TGC Cys	GGG Gly	CTC Leu	GAT Asp	CAG Gln	GCA Ala	GCC Ala	GAC Asp	1347
			430					435					440				

5	GTC	AAG	GTG	CCG	TCG	GTG	GGC	CCG	CCG	ACC	ATC	TCG	GCG	ACC	CGT	CCG	1395
	Val	Lys	Val	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	Ala	Thr	Arg	Pro	
	445						450					455					
	CGT	CCG	GAT	CAT	CCG	GAC	TGG	GAC	GTC	GCG	ATC	TGG	CTG	AAC	GTT	CTC	1443
	Arg	Pro	Asp	His	Pro	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	Leu	Asn	Val	Leu	
	460					465					470					475	
10	GGT	GTT	CCG	GGC	ACC	CCC	GGC	ATG	TTC	GAG	TTC	TAC	CGC	GAG	ATG	GAG	1491
	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	Arg	Glu	Met	Glu	
					480					485					490		
15	CAG	TGG	ATG	CGG	AGC	CAC	TAC	AAC	AAC	GAC	GAC	GCC	ACC	TTC	CGG	CCC	1539
	Gln	Trp	Met	Arg	Ser	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	Thr	Phe	Arg	Pro	
			--	495					500					505			
	GAG	TGG	TCG	AAG	GGG	TGG	GCG	TTC	GGT	CCC	GAC	CCG	TAC	ACC	GAC	AAC	1587
	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	Tyr	Thr	Asp	Asn	
20			510					515					520				
	GAC	ATC	GTC	ACG	AAC	AAG	ATG	CGC	GCC	ACC	TAC	ATC	GAA	GGT	GTC	CCG	1635
	Asp	Ile	Val	Thr	Asn	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	Glu	Gly	Val	Pro	
		525					530					535					
25	ACG	ACC	GAG	AAC	TGG	GAC	ACC	GCG	CGC	GCT	CGG	TAC	AAC	CAG	ATC	GAC	1683
	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	Asn	Gln	Ile	Asp	
	540					545					550					555	
	CCG	CAT	CGC	GTG	TTC	ACC	AAC	GGA	TTC	ATG	GAC	AAG	CTG	CTT	CCG		1728
30	Pro	His	Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	Leu	Leu	Pro		
					560					565					570		

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 25:

35 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LANGE: 570 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

40

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

45

50

55

Met Ser Asn His His His Gly His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro
 1 5 10 15

5 Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln
 20 25 30

Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp Val
 35 40 45

10 Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala
 50 55 60

His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala Met His Gly Trp
 65 70 75 80

15 Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu Lys Val Ile Leu
 85 90 95

20

25

30

35

40

45

50

55

	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	Asn	Thr	Gly	Gly	
				100					105					110			
5	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	
			115					120					125				
	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asn	Leu	Pro	Ala	
			130				135					140					
10	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	Asn	Ala	His	Gly	
	145					150					155					160	
	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	Gln	Thr	Thr	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Tyr	
					165					170					175		
15	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Thr	Glu	Leu	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	
				180					185					190			
	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	
			195					200					205				
20	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	
		210					215					220					
	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	
25	225					230					235					240	
	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	
					245					250					255		
	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	
30				260					265					270			
	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	
			275					280					285				
	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	
35	290					295						300					
	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	
	305					310					315					320	
	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	
40					325					330					335		
	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	Ala	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	
				340					345					350			
	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Gly	Leu	Ala	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	
45			355					360					365				
	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	Val	Gln	Phe	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	
		370					375					380					
	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	Val	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	
50	385					390					395					400	
	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	Glu	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	
					405					410				415			
	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	Glu	Phe	Pro	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	
55				420					425					430			

Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro Ser
 435 440 445
 Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His Pro
 450 455 460
 Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly Thr
 465 470 475 480
 Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg Ser
 485 490 495
 His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly
 500 505 510
 Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn
 515 520 525
 Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp
 530 535 540
 Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val Phe
 545 550 555 560
 Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565 570

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 26:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 1741 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 20..1741

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

	GAATTTAAGG GGAACATCG ATG AGT AAT ACG CGT AAA CGC AAG CGC CGT ACG	52
	Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr	
	1 5 10	
5	CAT GCC TCG ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC	100
	His Ala Ser Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe	
	15 20 25	
10	CCG AAC GAC ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG	148
	Pro Asn Asp Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys	
	30 35 40	
15	GAG ATC ATG CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG	196
	Glu Ile Met Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln	
	45 50 55	
20	GAT GTC GTT CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC	244
	Asp Val Val Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile	
	60 65 70 75	
25		
30		
35		
40		
45		
50		
55		

	CGC	CCG	CGC	GGC	GCG	ATG	CAC	GGC	TGG	ACC	CCG	CTC	ACC	GTG	GAG	AAG	292
	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	
				80						85					90		
5	GGG	GCC	AAC	GTC	GAG	AAG	GTG	ATC	CTC	GCC	GAC	ACG	ATG	ACG	CAT	CTG	340
	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu	Ala	Asp	Thr	Met	Thr	His	Leu	
				95					100					105			
10	AAC	GGC	ATC	ACG	GTG	AAC	ACG	GGC	GGC	CCC	GTG	GCT	ACC	GTC	ACC	GCC	388
	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	Asn	Thr	Gly	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Ala	
				110				115						120			
15	GGT	GCC	GGC	GCC	AGC	ATC	GAG	GCG	ATC	GTC	ACC	GAA	CTG	CAG	AAG	CAC	436
	Gly	Ala	Gly	Ala	Ser	Ile	Glu	Ala	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Lys	His	
				125				130					135				
20	GAC	CTC	GGC	TGG	GCC	AAC	CTG	CCC	GCT	CCG	GGT	GTG	CTG	TCG	ATC	GGT	484
	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asn	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Val	Leu	Ser	Ile	Gly	
						145					150					155	
25	GGC	GCC	CTT	GCG	GTC	AAC	GCG	CAC	GGT	GCG	GCG	CTG	CCG	GCC	GTC	GGC	532
	Gly	Ala	Leu	Ala	Val	Asn	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Gly	
					160						165				170		
30	CAG	ACC	ACG	CTG	CCC	GGT	CAC	ACC	TAC	GGT	TCG	CTG	AGC	AAC	CTG	GTC	580
	Gln	Thr	Thr	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Tyr	Gly	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	
				175					180					185			
35	ACC	GAG	CTG	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	628
	Thr	Glu	Leu	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	
				190				195					200				
40	ACG	TAC	CAG	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	676
	Thr	Tyr	Gln	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	
				205			210					215					
45	GGG	CGC	TGC	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	724
	Gly	Arg	Cys	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	
				220			225				230					235	
50	CGT	CAG	CGG	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	772
	Arg	Gln	Arg	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	
					240				245						250		
55	GCG	CCG	AAG	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	820
	Ala	Pro	Lys	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	
				255					260					265			
60	TCG	GGC	GGC	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	868
	Ser	Gly	Gly	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	
				270				275					280				
65	ATG	AAG	GTG	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	916
	Met	Lys	Val	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	
				285			290					295					
70	GTC	GGA	AGC	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	964
	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	
				300			305				310					315	
75	GCG	CGT	GAG	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	1012
	Ala	Arg	Glu	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	
					320					325					330		

	CCG	GAG	CCC	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	1060
	Pro	Glu	Pro	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	
				335					340					345			
5	GGA	ATC	GCA	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	1108
	Gly	Ile	Ala	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	
			350				355					360					
10	GGG	CTG	GCC	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	1156
	Gly	Leu	Ala	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	
		365					370					375					
15	GTC	CAG	TTC	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	1204
	Val	Gln	Phe	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	
	380					385				390						395	
	GGC	GCC	GTC	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	1252
	Gly	Ala	Val	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	
					400					405					410		
20	TTC	ACC	GAG	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	1300
	Phe	Thr	Glu	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	
				415					420					425			
25	GAG	TTC	CCG	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	1348
	Glu	Phe	Pro	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	
			430				435					440					
30	CAG	GCA	GCC	GAC	GTC	AAG	GTG	CCG	TCG	GTG	GGC	CCG	CCG	ACC	ATC	TCG	1396
	Gln	Ala	Ala	Asp	Val	Lys	Val	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	
		445					450					455					
35	GCG	ACC	CGT	CCG	CGT	CCG	GAT	CAT	CCG	GAC	TGG	GAC	GTC	GCG	ATC	TGG	1444
	Ala	Thr	Arg	Pro	Arg	Pro	Asp	His	Pro	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	
	460					465				470						475	
40	CTG	AAC	GTT	CTC	GGT	GTT	CCG	GGC	ACC	CCC	GGC	ATG	TTC	GAG	TTC	TAC	1492
	Leu	Asn	Val	Leu	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	
				480						485					490		
45	CGC	GAG	ATG	GAG	CAG	TGG	ATG	CGG	AGC	CAC	TAC	AAC	AAC	GAC	GAC	GCC	1540
	Arg	Glu	Met	Glu	Gln	Trp	Met	Arg	Ser	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	
				495					500					505			
50	ACC	TTC	CGG	CCC	GAG	TGG	TCG	AAG	GGG	TGG	GCG	TTC	GGT	CCC	GAC	CCG	1588
	Thr	Phe	Arg	Pro	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	
			510					515					520				
55	TAC	ACC	GAC	AAC	GAC	ATC	GTC	ACG	AAC	AAG	ATG	CGC	GCC	ACC	TAC	ATC	1636
	Tyr	Thr	Asp	Asn	Asp	Ile	Val	Thr	Asn	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	
		525					530					535					
60	GAA	GGT	GTC	CCG	ACG	ACC	GAG	AAC	TGG	GAC	ACC	GCG	CGC	GCT	CGG	TAC	1684
	Glu	Gly	Val	Pro	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	
	540					545				550						555	
65	AAC	CAG	ATC	GAC	CCG	CAT	CGC	GTG	TTC	ACC	AAC	GGA	TTC	ATG	GAC	AAG	1732
	Asn	Gln	Ile	Asp	Pro	His	Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	
					560					565					570		
70	CTG	CTT	CCG														1741
	Leu	Leu	Pro														

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- 5 (A) LANGE: 574 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

10 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Met Ser Asn Thr Arg Lys Arg Lys Arg Arg Thr His Ala Ser Thr Gly
 1 5 10 15
 5 Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp Ile Ala
 20 25 30
 Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met Leu Asp
 35 40 45
 10 Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val Arg Leu
 50 55 60
 Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg Gly Ala
 65 70 75 80
 15 Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn Val Glu
 85 90 95
 Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val
 100 105 110
 20 Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser
 115 120 125
 Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala
 130 135 140
 25 Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val
 145 150 155 160
 Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro
 165 170 175
 Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala
 180 185 190
 30 Val Val Trp Asn Gly Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn
 195 200 205
 Asp Pro Arg Ile Thr Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu
 210 215 220
 35 Thr Ser Val Thr Met Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln
 225 230 235 240
 Ser Tyr Thr Asp Ile Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala
 245 250 255
 40 Asp Gly Arg Thr Phe Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu
 260 265 270
 45
 50
 55

Ala Ile Trp Tyr Pro Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr
 275 280 285
 Val Ser Pro Thr Lys Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly
 290 295 300
 Ser Ala Gly Ser Leu Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser
 305 310 315 320
 Gly Pro Tyr Asn Tyr Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr
 325 330 335
 Asp Met Ile Gly Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu
 340 345 350
 Phe Gly Pro Ala Met Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr
 355 360 365
 Asn Ala Asn Asp Ile Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile
 370 375 380
 Lys Ala Thr Thr Leu Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr
 385 390 395 400
 Ser Arg Ala Asn Ile Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe
 405 410 415
 His Glu Arg Ile Glu Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn
 420 425 430
 Gly Pro Val Glu Ile Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val
 435 440 445
 Lys Val Pro Ser Val Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg
 450 455 460
 Pro Asp His Pro Asp Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly
 465 470 475 480
 Val Pro Gly Thr Pro Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln
 485 490 495
 Trp Met Arg Ser His Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu
 500 505 510
 Trp Ser Lys Gly Trp Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp
 515 520 525
 Ile Val Thr Asn Lys Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr
 530 535 540
 Thr Glu Asn Trp Asp Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro
 545 550 555 560
 His Arg Val Phe Thr Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565 570

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 1731 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

(ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 25..1731

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

GAATTCACAC AGGAAACAGA ATTC ATG GTT ATG CAC CAT GGG CAT GCC TCG	51
Met Val Met His His Gly His Ala Ser	
1 5	
ACC GGG CCG GTC GCG CCG CTT CCG ACG CCG CCG AAC TTC CCG AAC GAC	99
Thr Gly Pro Val Ala Pro Leu Pro Thr Pro Pro Asn Phe Pro Asn Asp	
10 15 20 25	
ATC GCG CTG TTC CAG CAG GCG TAC CAG AAC TGG TCC AAG GAG ATC ATG	147
Ile Ala Leu Phe Gln Gln Ala Tyr Gln Asn Trp Ser Lys Glu Ile Met	
30 35 40	
CTG GAC GCC ACT TGG GTC TGC TCG CCC AAG ACG CCG CAG GAT GTC GTT	195
Leu Asp Ala Thr Trp Val Cys Ser Pro Lys Thr Pro Gln Asp Val Val	
45 50 55	
CGC CTT GCC AAC TGG GCG CAC GAG CAC GAC TAC AAG ATC CGC CCG CGC	243
Arg Leu Ala Asn Trp Ala His Glu His Asp Tyr Lys Ile Arg Pro Arg	
60 65 70	
GGC GCG ATG CAC GGC TGG ACC CCG CTC ACC GTG GAG AAG GGG GCC AAC	291
Gly Ala Met His Gly Trp Thr Pro Leu Thr Val Glu Lys Gly Ala Asn	
75 80 85	
GTC GAG AAG GTG ATC CTC GCC GAC ACG ATG ACG CAT CTG AAC GGC ATC	339
Val Glu Lys Val Ile Leu Ala Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile	
90 95 100 105	
ACG GTG AAC ACG GGC GGC CCC GTG GCT ACC GTC ACC GCC GGT GCC GGC	387
Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly	
110 115 120	
GCC AGC ATC GAG GCG ATC GTC ACC GAA CTG CAG AAG CAC GAC CTC GGC	435
Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly	
125 130 135	
TGG GCC AAC CTG CCC GCT CCG GGT GTG CTG TCG ATC GGT GGC GCC CTT	483
Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu	
140 145 150	
GCG GTC AAC GCG CAC GGT GCG GCG CTG CCG GCC GTC GGC CAG ACC ACG	531
Ala Val Asn Ala His Gly Ala Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr	
155 160 165	
CTG CCC GGT CAC ACC TAC GGT TCG CTG AGC AAC CTG GTC ACC GAG CTG	579
Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu	
170 175 180 185	

	ACC	GCG	GTC	GTC	TGG	AAC	GGC	ACC	ACC	TAC	GCA	CTC	GAG	ACG	TAC	CAG	627
	Thr	Ala	Val	Val	Trp	Asn	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ala	Leu	Glu	Thr	Tyr	Gln	
					190					195					200		
5	CGC	AAC	GAT	CCT	CGG	ATC	ACC	CCA	CTG	CTC	ACC	AAC	CTC	GGG	CGC	TGC	675
	Arg	Asn	Asp	Pro	Arg	Ile	Thr	Pro	Leu	Leu	Thr	Asn	Leu	Gly	Arg	Cys	
				205				210						215			
10	TTC	CTG	ACC	TCG	GTG	ACG	ATG	CAG	GCC	GGC	CCC	AAC	TTC	CGT	CAG	CGG	723
	Phe	Leu	Thr	Ser	Val	Thr	Met	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Phe	Arg	Gln	Arg	
			220					225					230				
	TGC	CAG	AGC	TAC	ACC	GAC	ATC	CCG	TGG	CGG	GAA	CTG	TTC	GCG	CCG	AAG	771
	Cys	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asp	Ile	Pro	Trp	Arg	Glu	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	
		235					240					245					
15	GGC	GCC	GAC	GGC	CGC	ACG	TTC	GAG	AAG	TTC	GTC	GCG	GAA	TCG	GGC	GGC	819
	Gly	Ala	Asp	Gly	Arg	Thr	Phe	Glu	Lys	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Gly	
	250					255					260					265	
20	GCC	GAG	GCG	ATC	TGG	TAC	CCG	TTC	ACC	GAG	AAG	CCG	TGG	ATG	AAG	GTG	867
	Ala	Glu	Ala	Ile	Trp	Tyr	Pro	Phe	Thr	Glu	Lys	Pro	Trp	Met	Lys	Val	
					270						275				280		
	TGG	ACG	GTC	TCG	CCG	ACC	AAG	CCG	GAC	TCG	TCG	AAC	GAG	GTC	GGA	AGC	915
	Trp	Thr	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Pro	Asp	Ser	Ser	Asn	Glu	Val	Gly	Ser	
25				285					290					295			
	CTC	GGC	TCG	GCG	GGC	TCC	CTC	GTC	GGC	AAG	CCT	CCG	CAG	GCG	CGT	GAG	963
	Leu	Gly	Ser	Ala	Gly	Ser	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Pro	Gln	Ala	Arg	Glu	
			300					305					310				
30	GTC	TCC	GGC	CCG	TAC	AAC	TAC	ATC	TTC	TCC	GAC	AAC	CTG	CCG	GAG	CCC	1011
	Val	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Ile	Phe	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Glu	Pro	
		315					320					325					
	ATC	ACC	GAC	ATG	ATC	GGC	GCC	ATC	AAC	GCC	GGA	AAC	CCC	GGA	ATC	GCA	1059
	Ile	Thr	Asp	Met	Ile	Gly	Ala	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	Ala	
35	330					335					340					345	
	CCG	CTG	TTC	GGC	CCG	GCG	ATG	TAC	GAG	ATC	ACC	AAG	CTC	GGG	CTG	GCC	1107
	Pro	Leu	Phe	Gly	Pro	Ala	Met	Tyr	Glu	Ile	Thr	Lys	Leu	Gly	Leu	Ala	
					350					355					360		
40	GCG	ACG	AAT	GCC	AAC	GAC	ATC	TGG	GGC	TGG	TCG	AAG	GAC	GTC	CAG	TTC	1155
	Ala	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ile	Trp	Gly	Trp	Ser	Lys	Asp	Val	Gln	Phe	
				365					370					375			
	TAC	ATC	AAG	GCC	ACG	ACG	TTG	CGA	CTC	ACC	GAG	GGC	GGC	GGC	GCC	GTC	1203
	Tyr	Ile	Lys	Ala	Thr	Thr	Leu	Arg	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	Val	
45			380					385					390				
	GTC	ACG	AGC	CGC	GCC	AAC	ATC	GCG	ACC	GTG	ATC	AAC	GAC	TTC	ACC	GAG	1251
	Val	Thr	Ser	Arg	Ala	Asn	Ile	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Asp	Phe	Thr	Glu	
		395					400					405					
50	TGG	TTC	CAC	GAG	CGC	ATC	GAG	TTC	TAC	CGC	GCG	AAG	GGC	GAG	TTC	CCG	1299
	Trp	Phe	His	Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Tyr	Arg	Ala	Lys	Gly	Glu	Phe	Pro	
	410					415					420					425	
	CTC	AAC	GGT	CCG	GTC	GAG	ATC	CGC	TGC	TGC	GGG	CTC	GAT	CAG	GCA	GCC	1347
	Leu	Asn	Gly	Pro	Val	Glu	Ile	Arg	Cys	Cys	Gly	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	
55					430					435					440		

	GAC	GTC	AAG	GTG	CCG	TCG	GTG	GGC	CCG	CCG	ACC	ATC	TCG	GCG	ACC	CGT	1395
	Asp	Val	Lys	Val	Pro	Ser	Val	Gly	Pro	Pro	Thr	Ile	Ser	Ala	Thr	Arg	
				445					450					455			
5	CCG	CGT	CCG	GAT	CAT	CCG	GAC	TGG	GAC	GTC	GCG	ATC	TGG	CTG	AAC	GTT	1443
	Pro	Arg	Pro	Asp	His	Pro	Asp	Trp	Asp	Val	Ala	Ile	Trp	Leu	Asn	Val	
			460					465					470				
10	CTC	GGT	GTT	CCG	GGC	ACC	CCC	GGC	ATG	TTC	GAG	TTC	TAC	CGC	GAG	ATG	1491
	Leu	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Met	Phe	Glu	Phe	Tyr	Arg	Glu	Met	
		475					480					485					
15	GAG	CAG	TGG	ATG	CGG	AGC	CAC	TAC	AAC	AAC	GAC	GAC	GCC	ACC	TTC	CGG	1539
	Glu	Gln	Trp	Met	Arg	Ser	His	Tyr	Asn	Asn	Asp	Asp	Ala	Thr	Phe	Arg	
	490					495					500					505	
20	CCC	GAG	TGG	TCG	AAG	GGG	TGG	GCG	TTC	GGT	CCC	GAC	CCG	TAC	ACC	GAC	1587
	Pro	Glu	Trp	Ser	Lys	Gly	Trp	Ala	Phe	Gly	Pro	Asp	Pro	Tyr	Thr	Asp	
					510					515					520		
25	AAC	GAC	ATC	GTG	ACG	AAC	AAG	ATG	CGC	GCC	ACC	TAC	ATC	GAA	GGT	GTC	1635
	Asn	Asp	Ile	Val	Thr	Asn	Lys	Met	Arg	Ala	Thr	Tyr	Ile	Glu	Gly	Val	
				525					530					535			
30	CCG	ACG	ACC	GAG	AAC	TGG	GAC	ACC	GCG	CGC	GCT	CGG	TAC	AAC	CAG	ATC	1683
	Pro	Thr	Thr	Glu	Asn	Trp	Asp	Thr	Ala	Arg	Ala	Arg	Tyr	Asn	Gln	Ile	
			540				545					550					
35	GAC	CCG	CAT	CGC	GTG	TTC	ACC	AAC	GGA	TTC	ATG	GAC	AAG	CTG	CTT	CCG	1731
	Asp	Pro	His	Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Gly	Phe	Met	Asp	Lys	Leu	Leu	Pro	
		555				560					565						

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 569 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

	Met	Val	Met	His	His	Gly	His	Ala	Ser	Thr	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Leu
	1				5					10					15	
5	Pro	Thr	Pro	Pro	Asn	Phe	Pro	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Phe	Gln	Gln	Ala
				20					25					30		
	Tyr	Gln	Asn	Trp	Ser	Lys	Glu	Ile	Met	Leu	Asp	Ala	Thr	Trp	Val	Cys
			35					40					45			
10	Ser	Pro	Lys	Thr	Pro	Gln	Asp	Val	Val	Arg	Leu	Ala	Asn	Trp	Ala	His
		50					55					60				
	Glu	His	Asp	Tyr	Lys	Ile	Arg	Pro	Arg	Gly	Ala	Met	His	Gly	Trp	Thr
15	65					70					75					80
	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ala	Asn	Val	Glu	Lys	Val	Ile	Leu	Ala
					85					90					95	

20

25

30

35

40

45

50

55

Asp Thr Met Thr His Leu Asn Gly Ile Thr Val Asn Thr Gly Gly Pro
 100 105 110
 5 Val Ala Thr Val Thr Ala Gly Ala Gly Ala Ser Ile Glu Ala Ile Val
 115 120 125
 Thr Glu Leu Gln Lys His Asp Leu Gly Trp Ala Asn Leu Pro Ala Pro
 130 135 140
 10 Gly Val Leu Ser Ile Gly Gly Ala Leu Ala Val Asn Ala His Gly Ala
 145 150 155 160
 Ala Leu Pro Ala Val Gly Gln Thr Thr Leu Pro Gly His Thr Tyr Gly
 165 170 175
 15 Ser Leu Ser Asn Leu Val Thr Glu Leu Thr Ala Val Val Trp Asn Gly
 180 185 190
 Thr Thr Tyr Ala Leu Glu Thr Tyr Gln Arg Asn Asp Pro Arg Ile Thr
 195 200 205
 20 Pro Leu Leu Thr Asn Leu Gly Arg Cys Phe Leu Thr Ser Val Thr Met
 210 215 220
 Gln Ala Gly Pro Asn Phe Arg Gln Arg Cys Gln Ser Tyr Thr Asp Ile
 225 230 235 240
 25 Pro Trp Arg Glu Leu Phe Ala Pro Lys Gly Ala Asp Gly Arg Thr Phe
 245 250 255
 Glu Lys Phe Val Ala Glu Ser Gly Gly Ala Glu Ala Ile Trp Tyr Pro
 260 265 270
 30 Phe Thr Glu Lys Pro Trp Met Lys Val Trp Thr Val Ser Pro Thr Lys
 275 280 285
 Pro Asp Ser Ser Asn Glu Val Gly Ser Leu Gly Ser Ala Gly Ser Leu
 290 295 300
 35 Val Gly Lys Pro Pro Gln Ala Arg Glu Val Ser Gly Pro Tyr Asn Tyr
 305 310 315 320
 Ile Phe Ser Asp Asn Leu Pro Glu Pro Ile Thr Asp Met Ile Gly Ala
 325 330 335
 40 Ile Asn Ala Gly Asn Pro Gly Ile Ala Pro Leu Phe Gly Pro Ala Met
 340 345 350
 Tyr Glu Ile Thr Lys Leu Gly Leu Ala Ala Thr Asn Ala Asn Asp Ile
 355 360 365
 45 Trp Gly Trp Ser Lys Asp Val Gln Phe Tyr Ile Lys Ala Thr Thr Leu
 370 375 380
 Arg Leu Thr Glu Gly Gly Gly Ala Val Val Thr Ser Arg Ala Asn Ile
 385 390 395 400
 50 Ala Thr Val Ile Asn Asp Phe Thr Glu Trp Phe His Glu Arg Ile Glu
 405 410 415
 Phe Tyr Arg Ala Lys Gly Glu Phe Pro Leu Asn Gly Pro Val Glu Ile
 420 425 430

5 Arg Cys Cys Gly Leu Asp Gln Ala Ala Asp Val Lys Val Pro Ser Val
 435 440 445
 Gly Pro Pro Thr Ile Ser Ala Thr Arg Pro Arg Pro Asp His Pro Asp
 450 455 460
 10 Trp Asp Val Ala Ile Trp Leu Asn Val Leu Gly Val Pro Gly Thr Pro
 465 470 475 480
 Gly Met Phe Glu Phe Tyr Arg Glu Met Glu Gln Trp Met Arg Ser His
 485 490 495
 15 Tyr Asn Asn Asp Asp Ala Thr Phe Arg Pro Glu Trp Ser Lys Gly Trp
 500 505 510
 Ala Phe Gly Pro Asp Pro Tyr Thr Asp Asn Asp Ile Val Thr Asn Lys
 515 520 525
 20 Met Arg Ala Thr Tyr Ile Glu Gly Val Pro Thr Thr Glu Asn Trp Asp
 530 535 540
 Thr Ala Arg Ala Arg Tyr Asn Gln Ile Asp Pro His Arg Val Phe Thr
 545 550 555 560
 25 Asn Gly Phe Met Asp Lys Leu Leu Pro
 565

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 30:

30 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 36 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 35 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

40 **TCGCATGCCT CGACGGGCCC GGTGGCGCCG CTTCCG**

36

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 31:

45 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 25 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 50 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

55 **CGTGCTTCTG CAGTTCGGTG ACGAT**

25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 32:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LANGE: 39 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure-
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

TCCCATGGCA CACAGGAAAC ATCGATGACC ATGATTACG

39

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 33:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 25 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

CGTGCTTCTG CAGTTCGGTG ACGAT

25

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 34:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 18 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzel
 (D) TOPOLOGIE: linear

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

CGATGCACCA TGGGCATG

18

Patentansprüche

1. Aktive Cholesterinoxidase, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie die in SEQ ID NO 2 gezeigte Aminosäuresequenz aufweist.
2. DNA, welche für ein Peptid mit Cholesterinoxidase-Aktivität kodiert mit der in SEQ ID NO 1 gezeigten DNA-Sequenz oder der dazu komplementären DNA-Sequenz.
3. Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten Cholesterinoxidase durch Transformation einer geeigneten Wirtszelle mit einer DNA gemäß Anspruch 2, welche in einem geeigneten Expressionssystem kloniert vorliegt, Kultivierung der transformierten Wirtszellen und Isolierung der exprimierten Cholesterinoxidase aus dem Zytoplasma der transformierten Zellen.
4. Verfahren gemäß Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet, daß** die verwendeten DNA am 5'-Ende eine der in SEQ

ID NO 6, 8, 10, 12, 14 oder 16 gezeigten Sequenzen aufweist.

5. DNA gemäß Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie am 5'-Ende eine der in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 oder 16 gezeigten Sequenzen aufweist.
6. DNA gemäß Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie eine der in SEQ ID NO 18, 20, 22, 24, 26 oder 28 gezeigten Sequenzen aufweist.
7. Rekombinante Cholesterinoxidase, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie von einer DNA gemäß Anspruch 2 kodiert wird und am N-terminalen Ende eine der in SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 oder 17 gezeigten Sequenzen aufweist.
8. Rekombinante Cholesterinoxidase gemäß Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, daß** sie eine der in SEQ ID NO 21, 23, 25, 27 und 29 gezeigten Sequenzen aufweist.
9. Verwendung einer rekombinanten Cholesterinoxidase gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8 in einem enzymatischen Test zur Bestimmung von Cholesterin.

Claims

1. Active cholesterol oxidase, **characterized in that** it has the amino acid sequence shown in SEQ ID NO 2.
2. DNA which codes for a peptide with cholesterol oxidase activity having the DNA sequence shown in SEQ ID NO 1 or the DNA sequence which is complementary thereto.
3. Process for the production of a recombinant cholesterol oxidase by transformation of a suitable host cell with a DNA as claimed in claim 2 which is present cloned in a suitable expression system, culturing the transformed host cells and isolating the expressed cholesterol oxidase from the cytoplasm of the transformed cells.
4. Process as claimed in claim 3, **characterized in that** the DNA used has one of the sequences shown in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 or 16 at the 5' end.
5. DNA as claimed in claim 2, **characterized in that** it has one of the sequences shown in SEQ ID NO 6, 8, 10, 12, 14 or 16 at the 5' end.
6. DNA as claimed in claim 5, **characterized in that** it has one of the sequences shown in SEQ ID NO 18, 20, 22, 24, 26 or 28.
7. Recombinant cholesterol oxidase, **characterized in that** it is coded by a DNA as claimed in claim 2 and has one of the sequences shown in SEQ ID NO 7, 9, 11, 13, 15 or 17 at the N-terminal end.
8. Recombinant cholesterol oxidase as claimed in claim 7, **characterized in that** it has one of the sequences shown in SEQ ID NO 21, 23, 25, 27 or 29.
9. Use of a recombinant cholesterol oxidase as claimed in one of the claims 7 or 8 in an enzymatic test for the determination of cholesterol.

Revendications

1. Cholestérol oxydase active, **caractérisée en ce qu'elle** présente la séquence d'acides aminés représentée dans SEQ ID NO: 2.
2. ADN qui code pour un peptide possédant une activité de cholestérol oxydase comprenant la séquence d'ADN représentée dans SEQ ID NO: 1 ou la séquence d'ADN complémentaire à celle-ci.
3. Procédé pour la préparation d'une cholestérol oxydase recombinante par transformation d'une cellule hôte appropriée avec un ADN selon la revendication 2, qui est présent à l'état cloné dans un système d'expression approprié,

par mise en culture des cellules hôtes transformées et par isolation de la cholestérol oxydase exprimée à partir du cytoplasme des cellules transformées.

- 5 4. Procédé selon la revendication 3, **caractérisé en ce que** l'ADN utilisé présente, à l'extrémité 5', une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 6, 8, 10, 12, 14 ou 16.
5. ADN selon la revendication 2, **caractérisé en ce qu'il** présente, à son extrémité 5', une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 6, 8, 10, 12, 14 ou 16.
- 10 6. ADN selon la revendication 5, **caractérisé en ce qu'il** présente une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 18, 20, 22, 24, 26 ou 28.
- 15 7. Cholestérol oxydase recombinante, **caractérisée en ce qu'elle** est encodée par un ADN selon la revendication 2 et **en ce qu'elle** présente, à son extrémité amino terminale, une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15 ou 17.
8. Cholestérol oxydase recombinante selon la revendication 7, **caractérisé en ce qu'elle** présente une des séquences représentées dans SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27 et 29.
- 20 9. Utilisation d'une cholestérol oxydase recombinante selon l'une quelconque des revendications 7 ou 8, dans un test enzymatique pour la détermination de cholestérol.

25

30

35

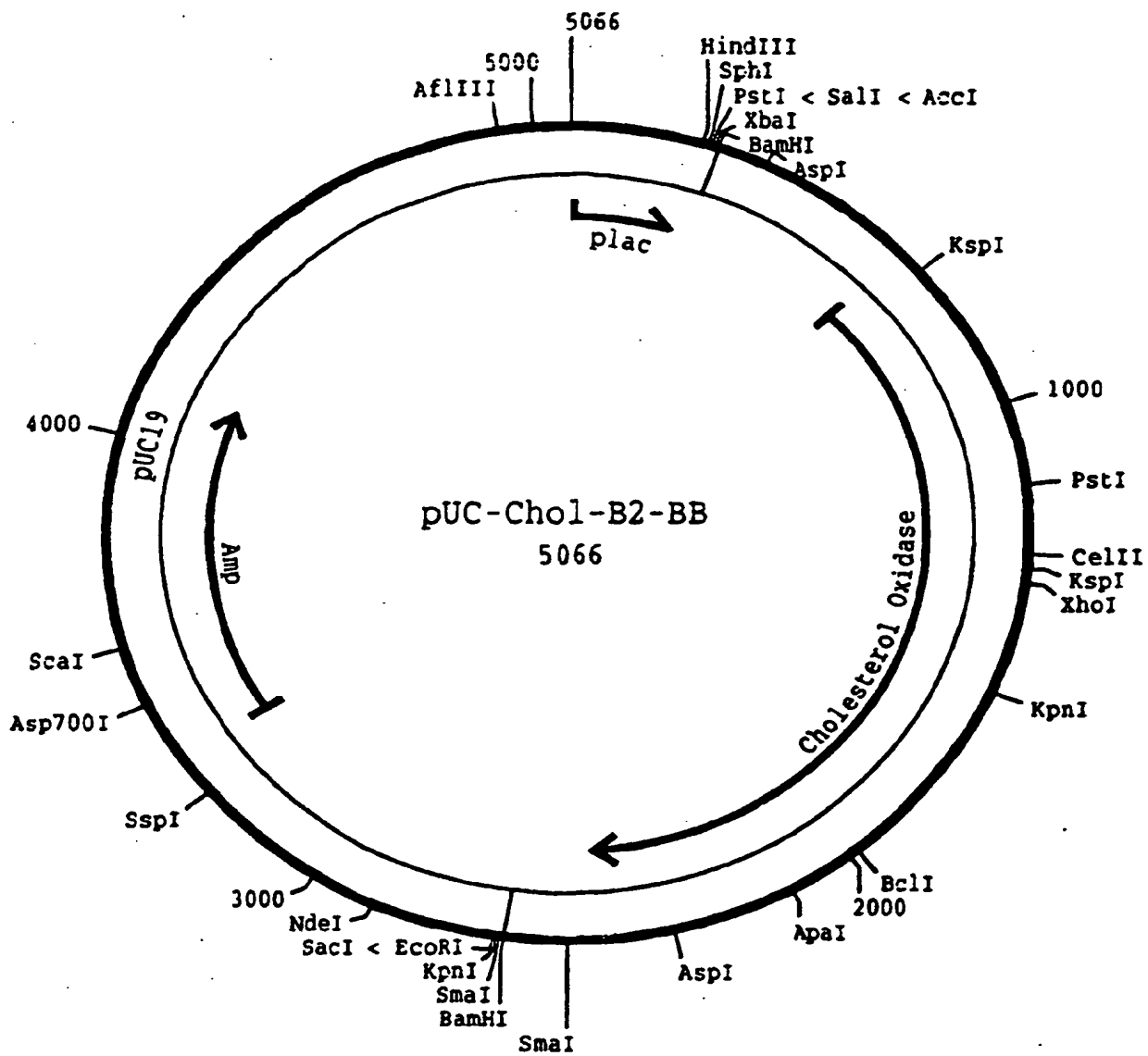
40

45

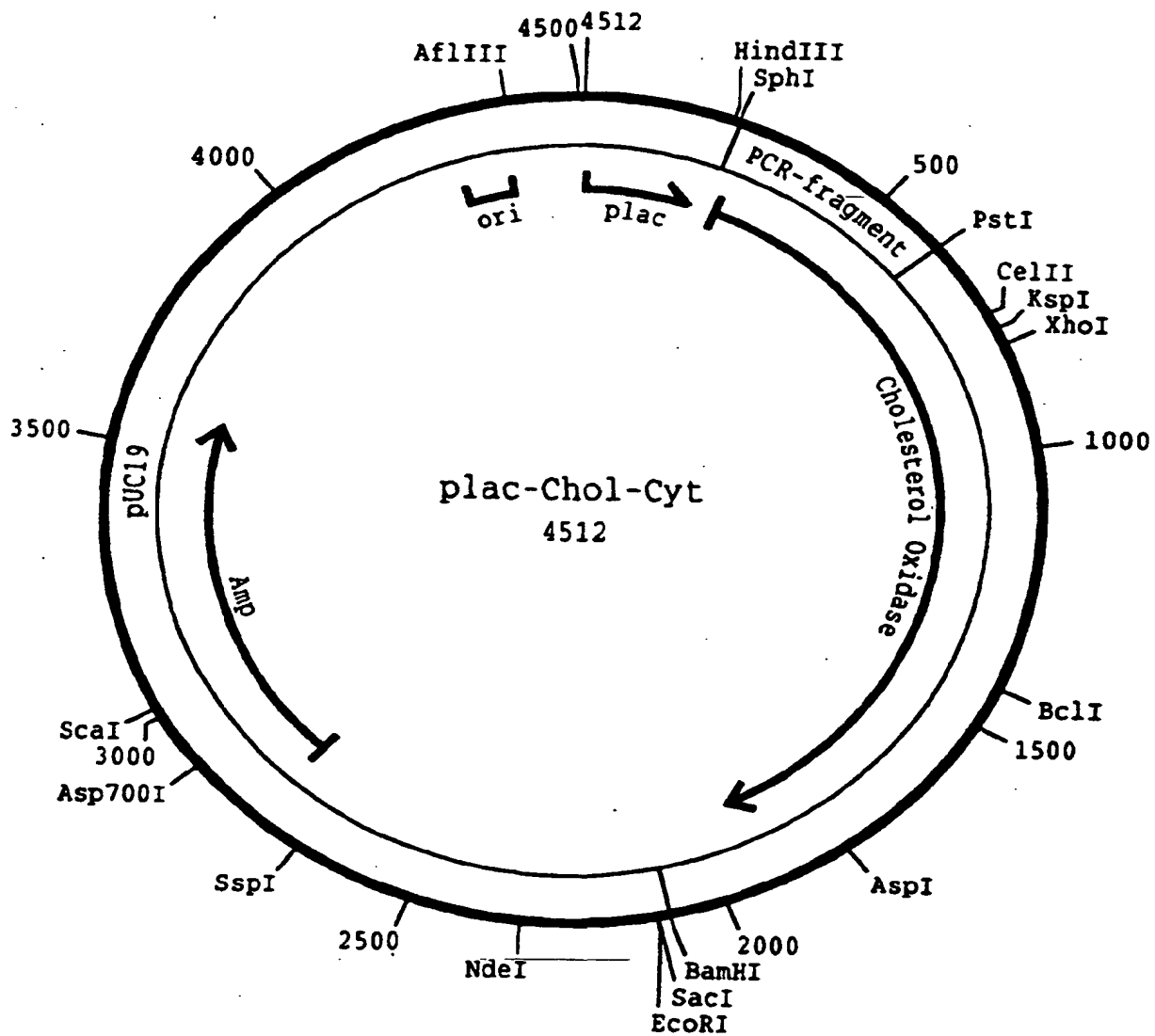
50

55

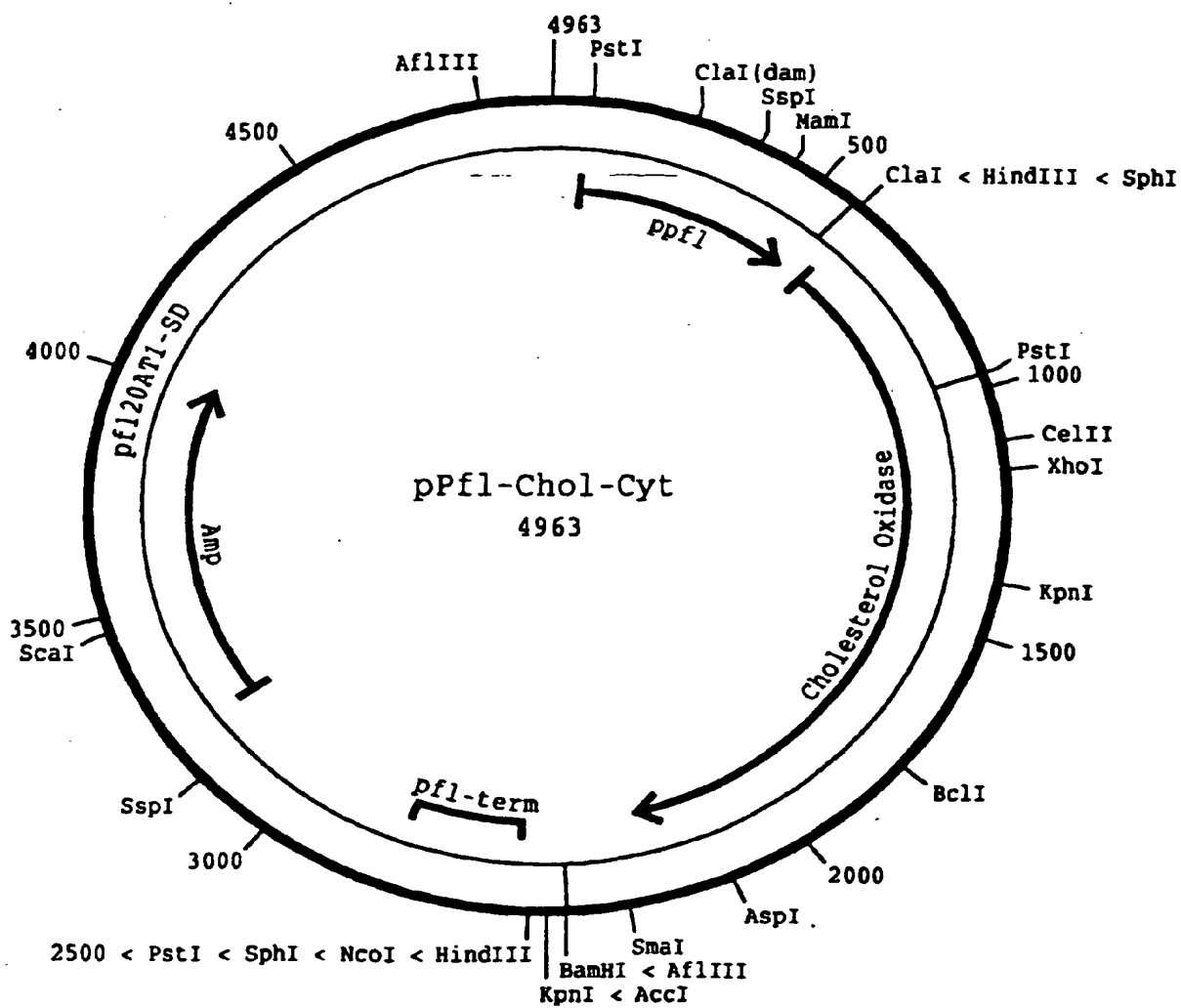
Figur 1



Figur 2



Figur 3



Figur 4

